

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Estomatología III



TESIS DOCTORAL

**Efecto clínico e inmunológico en el tratamiento no quirúrgico
de la periodontitis crónica en pacientes postmenopáusicas con
terapia hormonal sustitutiva**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Santiago Arias Herrera

Director

Antonio Bascones Martínez

Madrid, 2018

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Estomatología III



TESIS DOCTORAL

***Efecto clínico e inmunológico en el tratamiento no quirúrgico
de la periodontitis crónica en pacientes postmenopáusicas
con terapia hormonal sustitutiva***

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Santiago Arias Herrera

Director

Prof. Dr. Antonio Bascones Martínez

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
Departamento de Estomatología III



*Efecto clínico e inmunológico en el tratamiento no quirúrgico
de la periodontitis crónica en pacientes postmenopáusicas
con terapia hormonal sustitutiva*

TESIS DOCTORAL

Santiago Arias Herrera

DIRECTOR

Prof. Dr. Antonio Bascones Martínez

Madrid, 2017

A Chus y Carlos

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que han hecho posible la realización de esta tesis doctoral.

En primer lugar, al **Prof. Dr. Antonio Bascones Martínez**, por haber confiado en mí desde el primer momento, por su apoyo y confianza. Por enseñarme y guiarme en la realización de este estudio. Por confiar en mi y permitirme desarrollar esta línea de investigación. Gracias por todo Antonio.

Al **Dr. Santiago Palacios** por la colaboración en el desarrollo de este trabajo, por habernos permitido el acceso a sus instalaciones, por facilitarnos el reclutamiento de las mujeres que conforman este estudio así como su asesoramiento para la realización del protocolo.

A los miembros del laboratorio de la Fundación FISABIO, por todas las horas dedicadas a la enseñanza y por su paciencia a la hora de “pipetear”. Por su ayuda en la preparación y análisis de las muestras. En especial, a la Dra. Aurea Simó, porque sin ella no habría sido posible llevar a cabo este estudio, por estar siempre a mi lado y apoyarme.

A todas aquellas mujeres que han participado en la realización de este trabajo de manera desinteresada, se han comprometido y han permitido que se pueda llevar a cabo. Gracias por vuestra colaboración y paciencia.

A los profesores y colaboradores del master de Periodoncia de la Universidad Complutense de Madrid (UCM), por todos los conocimientos transmitidos, por su interés y comprensión. En especial a la **Dra. Elena Figuero** por trasmitirme la pasión por la estadística y la investigación clínica, por estar siempre disponible y por apoyarme ante cualquier imprevisto. A Berta Legido, porque gracias a ella soy el especialista que siempre he querido ser, por enseñarme todo lo que sé.

A Santiago Cano, del Servicio de Cálculo de la UCM, porque sin su ayuda en el análisis estadístico de los datos del estudio no se podría haber realizado este trabajo y, por su paciencia en todo momento.

Gracias a las casas comerciales OralB® (Procter & Gamble, Madrid, España) y Dentaïd® (San Cugat del Valles, Barcelona) por colaborar de forma desinteresada proporcionándonos cepillos, pastas de dientes y colutorios para todas las pacientes.

A todos mis compañeros del master de Periodoncia de la UCM por su apoyo durante toda la realización de este trabajo. A María, Georgina y Lys, porque ante los momentos de desesperación siempre han sido un hombro en el que poder desahogarse. A Angi, porque en todo momento a estado dispuesta a ayudarme y animarme en la realización de este estudio. A Rocío Díez, por haber estado a mi lado y haberme ayudado en la realización del estudio, por todas esas horas en el Instituto Palacios realizando el screening de los pacientes. Porque juntos empezamos este proyecto y sin su participación este estudio no habría sido posible.

A todas aquellas personas que aunque no aparezcan especificadas han estado presentes colaborando de alguna manera en la realización de este trabajo de investigación.

A Victoria y Marta, mis compañeras desde la más tierna infancia con las que siempre he compartido mi espíritu investigador. Porque nuestro sueño de realizar una investigación juntos está cada día mas cerca. A Leticia, mi más fiel amiga que desde la distancia siempre ha mostrado su apoyo y confianza.

A mi familia, por su cariño y comprensión durante las horas dedicadas a la realización de esta tesis.

A mi madre, sin la cual todo esto no habría sido posible. La persona que más ha confiado en mí y que me ha enseñado a ser la persona que soy en la actualidad. Porque siempre ha sido mi más fiel compañera y amiga. Por se la persona que siempre me ha animado a superarme ante cada reto y adversidad. Porque sin “mama Chus” nada sería posible. Gracias mama.

A Carlos, por confiar en mí desde el primer momento. Por ser mi guía en los momentos de sombras. Por su calma y paciencia en los momentos de crisis, por su tolerancia en las horas de dedicación a la tesis. Gracias.

ÍNDICE

I. RESUMEN.....	13
II. SUMMARY.....	18
III. INTRODUCCIÓN.....	23
1. MENOPAUSIA Y CLIMATERIO.....	24
1.1. Definición de menopausia.....	24
1.1.1. Menopausia precoz.....	28
1.1.2. Menopausia quirúrgica.....	29
1.2. Fisiología de la menopausia.....	29
1.3. Manifestaciones fisiológicas de la menopausia.....	33
1.4. Tratamiento de la menopausia.....	37
2. ENFERMEDAD PERIODONTAL.....	41
2.1. Concepto y epidemiología.....	41
2.2. Etiología y patogenia de la periodontitis.....	42
2.3. Tratamiento periodontal no quirúrgico.....	44
3. ENFERMEDAD PERIODONTAL Y MENOPAUSIA.....	46
3.1. Papel de los estrógenos en la patogenia de la periodontitis.....	46
3.2. Utilidad del fluido gingival crevicular (FGC) como medio diagnóstico de los mediadores inflamatorios.....	56
3.2.1. Interleuquina 1 β	58
3.2.2. Interleuquina 6.....	61
3.2.3. Interleuquina 17.....	62
IV. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	65
1. JUSTIFICACIÓN.....	66
2. HIPÓTESIS.....	67
3. OBJETIVOS.....	68

V. MATERIAL Y MÉTODO	70
1. PACIENTES	71
1.1. Población de estudio	71
1.2. Selección de los pacientes	72
2. MÉTODO	73
2.1. Tipo de estudio	73
2.2. Consentimiento informado	73
2.3. Diseño del estudio	73
2.3.1. Calibración previa del examinador	73
2.3.2. Secuencia del estudio	74
2.4. Variables respuesta	76
2.4.1. Índice de placa	77
2.4.2. Índice gingival	77
2.4.3. Profundidad de sondaje	77
2.4.4. Recesión gingival	78
2.4.5. Nivel de inserción clínica	78
2.5. Recogida y análisis de las muestras de FGC	78
2.5.1. Toma de muestras de FGC	78
2.5.2. Cálculo del volumen de FGC	78
2.5.3. Calibrado del Periotron 8000®	79
2.5.4. Análisis de las muestras de FGC	79
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	81
3.1. Cálculo del tamaño muestral	81
3.2. Análisis de los datos	81
VI. RESULTADOS	84
1. POBLACIÓN DE ESTUDIO	85
2. CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA	87
3. VARIABLES CLÍNICAS	91
3.1. Índice de placa	91
3.2. Índice gingival	91

3.3. Recesión gingival.....	104
3.4. Profundidad de sondaje.....	109
3.5. Nivel de inserción clínica.....	116
4. VARIABLES INMUNOLÓGICAS.....	119
4.1. Interleuquina 1 β	119
4.2. Interleuquina 6.....	121
4.3. Interleuquina 17.....	123
5. CORRELACIONES.....	125
5.1. Correlaciones ente variables clínicas e inmunológicas.....	125
5.2. Odd Ratio.....	129
5.3. Análisis Chaid Exhaustivo.....	129
VII. DISCUSIÓN.....	132
1. METODOLOGÍA DEL ESTUDIO.....	133
2. VARIABLES CLÍNICAS.....	141
3. VARIABLES INMUNOLÓGICAS.....	150
4. PRINCIPALES LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	153
VIII. CONCLUSIONES.....	155
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	158
X. ANEXOS.....	182
1. Aprobación del comité ético.....	183
2. Consentimiento informado.....	185

RESUMEN

***Efecto clínico e inmunológico en el tratamiento no quirúrgico
de la periodontitis crónica en pacientes postmenopáusicas
con terapia hormonal sustitutiva***

Justificación

La relación existente entre las enfermedades periodontales y las variaciones en la concentración de hormonas sexuales en los diferentes estadios en la vida de la mujer ha sido objeto de estudio de numerosas investigaciones sugiriendo que los estrógenos son capaces de modular la respuesta vascular y el recambio del tejido conectivo del periodonto, asociado con una interacción de los mediadores de la inflamación y cambios en la microflora oral que inducen a manifestaciones clínicas del estado periodontal (Amar and Chung, 1994, Mariotti, 1994, Armitage, 1999b, Leimola-Virtanen et al., 2000, Krejci and Bissada, 2002, Mascarenhas et al., 2003, Guncu et al., 2005, Shiau and Reynolds, 2010a, Markou et al., 2011).

Dichas investigaciones avalan la presencia de receptores diana de estrógenos en diferentes localizaciones del periodonto, por ejemplo, en las capas endoteliales y espinosa del epitelio gingival (Vittek et al., 1982b), en las células endoteliales y en peritos de vasos sanguíneos de la lámina propia (Vittek et al., 1982c), en fibroblastos del epitelio gingival junto con la presencia de receptores diana de progesterona (Kawahara and Shimazu, 2003). Junto con estos hallazgos, se ha determinado que el periodonto posee la capacidad de metabolizar progesterona (el-Attar et al., 1973) y estrona (Holmes and Elattar, 1977) induciendo incrementos en su tasa de síntesis en periodos de inflamación gingival (Ojanotko-Harri, 1985). La presencia de receptores diana de estrógenos y progesterona en los tejidos periodontales determina que ante variaciones hormonales se produzcan alteraciones vasculares e inflamatorias en los tejidos. Ambas hormonas son capaces de inducir una reducción en la tasa del flujo corpuscular y, un incremento en la proliferación y permeabilidad vascular (Lindhe et al., 1967).

Los estudios sugieren que la reducción de los niveles de hormonas sexuales femeninas (progesterona y estradiol) que acontece tras la menopausia alteran la producción de IL-1 β , IL-6 e IL-17 de forma sistémica y local, postulándose que estos cambios pueden ser los responsables de una mayor pérdida de inserción asociada a la menopausia (Reinhardt et al., 1994, Reinhardt et al., 1998, Reinhardt et al., 2010). En la actualidad no existen estudios que evalúen el efecto de la terapia hormonal sustitutiva en mujeres menopáusicas con periodontitis tras el tratamiento periodontal no quirúrgico respecto de aquellas que no emplean dicha terapia.

Objetivo

Evaluar la respuesta al tratamiento periodontal no quirúrgico en mujeres postmenopáusicas con periodontitis crónica moderada generalizada bajo terapia hormonal sustitutiva en cuanto a variables clínicas e inmunológicas, basadas en el paciente, respecto de aquellas sin dicha terapia hormonal sustitutiva.

Material y Método

Se diseñó un estudio de cohortes prospectivo controlado de tres meses de duración mediante el reclutamiento consecutivo de mujeres postmenopáusicas en el Instituto Palacios de Salud y Medicina de la Mujer de Madrid. Treinta mujeres postmenopáusicas con periodontitis crónica moderada generalizada fueron clasificadas en dos cohortes en función de su concentración de estradiol en sangre (factor exposición). La cohorte expuesta estuvo conformada por 15 mujeres consideradas como estrógeno suficientes al emplear terapia hormonal sustitutiva (concentración de estradiol $\geq 30\text{pg/mL}$) y, la cohorte no expuesta por 15 consideradas como estrógeno deficientes (concentración de estradiol $< 30\text{pg/mL}$).

Las variables respuesta analizadas fueron parámetros clínicos (índice de placa, índice de sangrado, profundidad de sondaje, recesión gingival y nivel de inserción clínica) y parámetros inmunológicos (concentración interleuquina 1 β (IL-1 β), interleuquina 6 (IL-6) e interleuquina 17 (IL-17)). Las pacientes recibieron tratamiento periodontal no quirúrgico y fueron re-evaluadas al mes y a los tres meses.

El estudio estadístico se realizó mediante el empleo del test chi-cuadrado para variables categóricas, mientras que para las variables cuantitativas se empleó el test t-student y el test de U d Mann-Whitney. El análisis prospectivo de la variables paramétricas se realizó mediante un análisis de la varianza (ANOVA) con medidas repetidas en el tiempo. Para el factor intra-sujeto y la interacción del factor intra-sujeto se realizó la corrección de GreenHouse-Geisser.

La relación entre las variables inmunológicas y las variables clínicas se realizó mediante tablas de contingencia aplicando el test de correlación de Pearson. Se calculó el odds ratio (OR) en el caso en el existieran asociación estadísticamente significativa. Se realizó un análisis de segmentación mediante el empleo del test CHAID exhaustivo (*Chi-square automatic interaction detector*).

Resultados

Veintiséis mujeres postmenopáusicas completaron el estudio. No existen diferencias significativas entre ambas cohortes para las variables clínicas analizadas excepto para el índice gingival ($p=0,013$) en la visita basal. Al mes de re-evaluación se detectaron diferencias significativas ($p<0,05$) intragrupo para todas las variables clínicas sin alcanzar diferencias significativas intergrupo ($p>0,05$). Concentraciones de estradiol $\geq 40\text{pg/ml}$ presentan una reducción del índice de sangrado en $-0,27$ mientras que concentraciones $\leq 20\text{ pg/ml}$ incrementan la inflamación gingival en $+0,29$. Se detectaron diferencias significativas ($p<0,001$) ínter e intragrupo en cuanto a la concentración de IL-1 β , IL-6 e IL-17. Existe una correlación positiva entre concentraciones elevadas de IL-1 β , IL-6 e IL-17 y el aumento en el sangrado gingival ($r=0,700$; $r=0,640$ y $r=0,494$ respectivamente) en aquellas mujeres que no emplean la terapia hormonal. Por el contrario, existe una correlación positiva entre el descenso en la concentración de IL-1 β e IL-17 y la reducción en el sangrado ($r=0,365$ y $r=0,382$ respectivamente) en mujeres que emplean terapia hormonal sustitutiva. La cohorte estrógeno deficiente presentó un OR=0,750 (IC 95%, 1,16-4,13) para desarrollar localizaciones con una profundidad de sondaje $\geq 4\text{mm}$ en la visita de re-evaluación a los 3 meses. Así mismo, presentaron un OR=1,57 (IC 95%, 1,29-6,42) para desarrollar pérdida de inserción $\geq 4\text{mm}$ a los 3 meses.

Conclusión

A pesar de las limitaciones del presente estudio, podemos concluir que la respuesta al tratamiento periodontal en mujeres postmenopáusicas con periodontitis crónica bajo terapia hormonal sustitutiva no difiere en base a la reducción en la profundidad de sondaje y en la ganancia en el nivel de inserción clínico, respecto de aquellas mujeres sin dicha terapia hormonal sustitutiva.

Las mujeres que emplean dicha terapia presentan una menor inflamación gingival independiente del acúmulo de placa así como una mayor recesión gingival que tiende a incrementarse con el tiempo asociado a técnicas de higiene oral respecto aquellas que no emplean dicha terapia.

Las mujeres que emplean terapia hormonal presentan una menor concentración de mediadores de la inflamación así como un descenso mayor de los mismos tras el tratamiento periodontal no quirúrgico. Son necesarios mas estudios que continúen esta línea de investigación y desarrollen los resultados aquí presentados.

Palabras clave: Menopausia, Periodontitis, Terapia hormonal sustitutiva

SUMMARY

***Clinical and immunological effect in non-surgical treatment
of chronic periodontitis in postmenopausal patients
with hormone replacement therapy***

Background

Several studies have researched the relationship between periodontal diseases and variations in sex hormones levels at different stages in women's life suggesting that estrogens are capable of modulating the vascular response and connective tissue turnover at the periodontium. This event was associated with an interaction of inflammatory mediators and changes in oral microbiota that induce clinical manifestations in the periodontal status (Amar and Chung, 1994, Mariotti, 1994, Armitage, 1999b, Leimola-Virtanen et al., 2000, Krejci and Bissada, 2002, Mascarenhas et al., 2003, Guncu et al., 2005, Shiao and Reynolds, 2010b, Markou et al., 2011).

Researchers have shown that estrogen target receptors are located in different sites in the periodontium such as in the endothelial and spinal layers on the gingival epithelium (Vittekk et al., 1982b), in the endothelial cells on the lamina propria (Vittekk et al., 1982c) and in fibroblasts of the gingival epithelium together with the presence of progesterone target receptors (Kawahara and Shimazu, 2003). In addition to these findings, it has been determined that the periodontium has the ability to synthesize progesterone (el-Attar et al., 1973) and estrone (Holmes and Elattar, 1977) inducing increases in its synthesis rate during periods of gingival inflammation (Ojanotko-Harri, 1985). The presence of estrogen and progesterone target receptors in the periodontal tissues determines that hormonal variations lead to vascular and inflammatory changes in tissues. Both sex hormones are capable of inducing a reduction in the rate of corpuscular flow and an increase in vascular proliferation and permeability (Lindhe et al., 1967).

Studies indicate that the reduction in the level of female sex hormones (progesterone and estradiol) disrupt production of interleukin 1 β (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6) and interleukin 17 (IL-17) locally and systemically, from which it can be inferred that these changes may cause a higher attachment loss associated with menopause (Reinhardt et al., 1994, Reinhardt et al., 1998, Reinhardt et al., 2010). Nowadays, there are not studies to assess the effect of hormone replacement therapy in menopausal women with periodontal disease after non-surgical periodontal treatment respect those women that do not take the abovementioned therapy.

Objective

To assess the response to non-surgical periodontal treatment in postmenopausal women with chronic periodontitis under hormone replacement therapy in terms of patient-based clinical and immunological outcomes, with respect to those without hormone replacement therapy.

Material and Method

A prospective blind cohort study with a three months follow-up was designed by the consecutive recruitment of postmenopausal women at the Instituto Palacios de Salud y Medicina de la Mujer (Madrid). Thirty postmenopausal women with moderate chronic periodontitis were classified into two cohorts based on their level of estrogen in plasma (exposure factor). The exposed cohort consisted of 15 women considered as sufficient estrogen patients when using hormone replacement therapy (estradiol concentration $>30\text{pg/mL}$) and the non-exposed cohort by 15 women considered as deficient estrogen patients (estradiol concentration $< 30\text{pg/mL}$).

The outcomes variables were clinical parameters (plaque index, bleeding on probing, probing pocket depth, gingival recession and clinical attachment level) and immunological parameters (IL-1 β , IL-6 and IL-17). After assessing these parameters non-surgical periodontal treatment was performed. Subjects were re-assessed after 1 and 3 months.

Statistical analysis was performed using the chi-square test for categorical variables, while for quantitative variables, t-student test and U Mann-Whitney test were used. The prospective analysis of the parametric variables was performed using an analysis of variance (ANOVA) with repeated measures over time. For the intra-subject factor and the interaction of the intra-subject factor the GreenHouse-Geiser correction was performed.

The relationship between the immunological variables and the clinical variables was performed using contingency tables by Pearson correlation test. The odds ratio (OR) was calculated in the case where there was a statistically significant association. A segmentation analysis was performed using chi-square automatic interaction detector (CAID).

Results

Twenty-six postmenopausal women accomplished the full study. There was not statistically significant difference between both cohorts for the analyzed clinical variables except for the gingival index ($p=0,013$) at baseline. During the one-month re-assessment, intragroup differences were detected for all clinical variables without significant intergroup differences ($p>0,05$). Estradiol concentration $\geq 40\text{pg/ml}$ showed a reduction in bleeding on probing rate by -0.27 while concentrations $\leq 20\text{pg/ml}$ increased gingival inflammation by $+0.29$. Significant inter and intragroup differences ($p<0,001$) were detected in the concentration of IL-1 β , IL-6 and IL-17. There was a positive correlation between high concentrations of IL-1 β , IL-6 and IL-17 and increased gingival bleeding ($r=0.700$, $r=0.640$ and $r=0.494$ respectively) in women not using hormone therapy. In contrast, there was a positive correlation between low concentrations of IL-1 β and IL-17 and the reduction on bleeding ($r=0.365$ and $r=0.382$ respectively) in women using hormone therapy. The estrogen deficient cohort showed an OR=0.750 (95% confidence interval, 1.16 to 4.13) to develop sites with probing pocket depth $\geq 4\text{mm}$ at three months revaluation. Likewise, they showed an OR=1.57 (95% confidence interval, 1.29 to 6.42) to develop clinical attachment loss $\geq 4\text{mm}$.

Conclusions

Within the limitations of the present study, we concluded that the response to non-surgical periodontal treatment in postmenopausal women with chronic periodontitis under hormone replacement therapy does not differ in the reduction on probing pocket depth and in the gain on clinical attachment level compared to those without hormone replacement therapy.

Women who used this hormone therapy have less gingival inflammation independent of plaque accumulation as well as greater gingival recession that tends to increase over time.

Women who used this hormone therapy have a lower concentrations of inflammatory mediators as well as a greater decrease of those after non-surgical periodontal treatment. More studies are needed to continue this line of research and develop the results presented herein.

Key words: Menopause, Periodontitis, Hormone replacement therapy

INTRODUCCIÓN

1.- MENOPAUSIA

1.1.- DEFINICIÓN DE MENOPAUSIA

La interacción de múltiples factores históricos, sociales, culturales, médicos e incluso económicos implican una comprensión del proceso de envejecimiento compleja, de ahí que el delimitarlo considerando únicamente la edad sería impreciso. Ello es debido a que en la sociedad española la esperanza de vida presenta un patrón ascendente estableciendo sociedades muy heterogéneas (Figura 1). El incremento continuo de la esperanza de vida en la sociedad actual, especialmente en las mujeres, siendo en 5,6 años superior a la de los hombres, ha establecido un perfil de población envejecida que se caracteriza por bajas tasas de natalidad y de mortalidad, y con un crecimiento natural reducido (Figura 2). (INE, 2016).

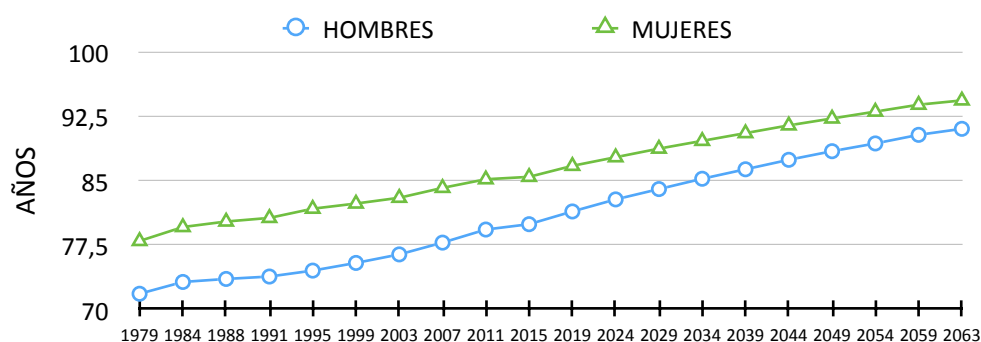


Figura 1. Esperanza de vida al nacimiento en la población española (INE, 2016)

Ha habido un gran incremento en la esperanza de vida que se ha observado principalmente a partir de comienzos de este siglo. Hace unos 1000 años la esperanza de vida era de 25 años. En 1900 era de 45 años, y desde entonces se ha duplicado. Es relevante destacar que la esperanza de vida es mayor para la mujer que para el hombre. En la actualidad, la esperanza de vida se sitúa en torno a los 83,48 años según datos del *Instituto Nacional de Estadística (INE)* (INE, 2016). En definitiva, la mujer permanecerá en situación de privación hormonal entre 25 y 35 años; en muchos casos más de un tercio de su vida. Los datos proporcionados por el INE describen que el 20,63% de las mujeres tienen edades comprendidas entre los 45-59 años; el 15,13% entre 60-74 años, mientras que el 14,71% tienen mas de 75 años. Por lo tanto, aproximadamente el 50,47% de la población femenina española se encuentra en un periodo de su vida propio de la perimenopausia o menopausia establecida. Debemos de destacar que en España se ha calculado que existen aproximadamente nueve millones de mujeres mayores de 50 años (INE, 2016).

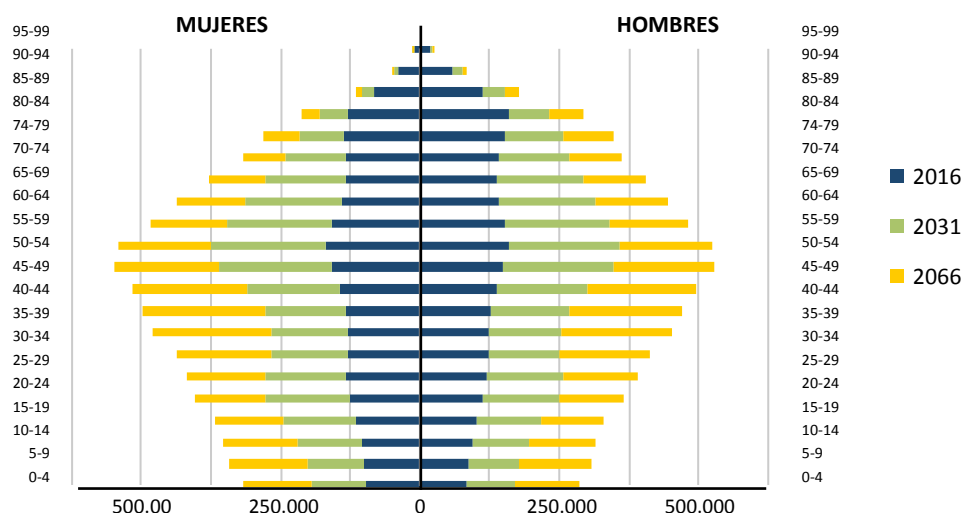


Figura 2. Pirámide de población: España 2016 (INE, 2016)

Aproximadamente, un 85% de la misma manifestarán sintomatología que afectará significativamente a su calidad de vida. Ante esta perspectiva, el establecimiento de una actitud terapéutica, será en el futuro una preferencia de salud pública a tener en cuenta, que implica una gran repercusión en el ámbito sanitario, social y económico, debido al incremento progresivo de mujeres que vivirán un período posmenopáusico. De ahí la importancia de la población adulta femenina en el marco de la atención sanitaria.

Desde tiempos remotos se han conocido los cambios físicos y psíquicos asociados al climaterio durante la vida de la mujer. Dichos cambios están asociados a la desaparición de la función menstrual. A pesar de conocerse el climaterio como una etapa propia en la vida de toda mujer, la realidad es que hasta épocas mas recientes se ha mencionado de forma escasa en la literatura médica como no médica, y siempre con términos muy poco científicos. Así, en los primeros textos bíblicos, Abraham asociaba el climaterio al fallo reproductivo y a la poca probabilidad de tener descendencia en parejas de 90 a 100 años. Aristóteles se refería a esta etapa como un proceso de desintoxicación de los venenos presentes en la sangre de la mujer describiendo que si no se producía el cese de la menstruación la mujer debía ser sometida a purgas y otros ungüentos para conseguir tal fin (Medvei, 1993, Goldzieher, 2000).

No tan lejano en el tiempo, en el año 1816, se define de manera científica el síndrome climatérico como un conjunto de problemas físicos tales como las hemorragias, además de cambios en el temperamento y síntomas emocionales (De Gardarne, 1821). No es hasta 1899 que no aparece por primera vez una referencia bibliográfica al término menopausia (van Keep, 1990).

El desconocimiento de esta etapa en la vida de la mujer cambia de manera drástica con el descubrimiento de los estrógenos y de la progesterona, y con su síntesis para uso médico. El desarrollo de la síntesis de hormonas sexuales femeninas permitió el tratamiento de la sintomatología y cambios degenerativos asociados. La evolución en este campo médico se alteró en la década de los setenta al observarse una asociación entre el uso excesivo de estrógeno y un aumento en la incidencia de algunos cánceres. En las décadas siguientes, la investigación médica llevada a cabo ha permitido comprender mejor la menopausia y los acontecimientos que la rodean. El aumento de interés por los cambios producidos por las variaciones hormonales en la fisiología del cuerpo, junto con el número creciente de mujeres que viven décadas antes y después de la menopausia ha llevado a una mayor preocupación por este período en la vida de la mujer así como de los beneficios potenciales que otorga la terapia hormonal sustitutiva.

Aunque su significado no es el mismo, con frecuencia se emplea de manera idéntica el concepto menopausia y climaterio. El concepto menopausia se refiere concretamente al cese de la menstruación determinado por una amenorrea mantenida en el tiempo por un periodo superior a doce meses; mientras que el concepto climaterio hace referencia al período de tiempo durante el cual se pasa de la vida reproductiva a la postreproductiva, ajustándose a un medio hormonal y emocional distintos (Haney, 1986). Existe también confusión con los conceptos premenopausia, perimenopausia y postmenopausia.

Se entiende como menopausia al cese permanente de la menstruación que induce a alteraciones fisiológicas debido a la declinación en la secreción de estrógenos, principalmente estradiol, con pérdida de la función folicular (Burger et al., 1995). Comprende una serie de alteraciones tanto físicas como emocionales relacionadas con las fluctuaciones hormonales debido al descenso de la actividad de los ovarios coincidiendo con el final de la vida reproductiva de la mujer. Por norma, suele instaurarse entre los 45 y 55 años de edad (Friedlander, 2002) (Gold, 2011) tras un período de 12 meses desde la última menstruación (Streckfus et al., 1998). La media de aparición en general es de 50 años, existiendo diferencias entre países industrializados y países en desarrollo. Según datos de la *Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia* (SEGO), en España la edad de aparición es a los 51,4 años de edad, con un intervalo de tiempo que comprende desde los 48-54 años (Mendoza et al., 2013). Se considera menopausia precoz cuando acontece de manera prematura, antes de los 40 años y menopausia artificial a la inducida quirúrgicamente, mediante la extirpación de ambos ovarios, la quimioterapia o la radioterapia.

La pérdida hormonal suele producirse de manera progresiva sin instaurarse de forma repentina. En un primer momento acontece un periodo conocido como **Premenopausia** o **Climaterio**, que afecta a la mayoría de las mujeres, que implica una transición hacia la menopausia, durante un periodo de tiempo de aproximadamente unos 5 años el cual tiende a reducirse en aquellas mujeres que son fumadoras o que están sometidas a estrés así como a aquellas a las que se les ha inducido una menopausia quirúrgica. Durante la premenopausia es característico que se produzcan diferentes alteraciones que afecten al ritmo físico de la mujer, como son los síntomas vasovagales, las menstruaciones prolongadas en el tiempo, la sequedad en la piel y mucosas, el cambio en la distribución de la masa corporal y un aumento en la tasa de pérdida de la masa ósea, así como a aspectos psicológicos de su vida, por lo que se producen cambios emocionales, ansiedad, estadios depresivos o pérdida de la capacidad de atención, así como manifestaciones orales. La importancia de esta etapa radica en el hecho de ser la transición de la edad fértil a la no fértil (Sherman et al., 1979, Mendoza et al., 2013).

Tras este periodo, se produce la menopausia, la cual se define por la fecha de la última menstruación, siendo ésta el síntoma que marca la irrupción de un nuevo estadio en la vida de la mujer, que se caracteriza por la pérdida de su capacidad fértil y que se prolonga en el tiempo, de manera gradual, hasta llegar a la postmenopausia. Se establece que para considerar una menstruación como la última deben de transcurrir como mínimo doce meses desde la misma siendo el resultado de la pérdida de la función folicular en ausencia de causas biológicas o quirúrgicas. Sin embargo, no se puede referir a la menopausia como un término absoluto de cese de la función ovárica ya que se trata de un proceso continuo que comienza tiempo atrás de que se evidencien manifestaciones sistémicas y, que la *Organización Mundial de la Salud (OMS)* divide en tres estadios aceptadas por el *Board de la Sociedad Internacional de Menopausia* (1999) así como por la *SEGO* (2003).

La **Premenopausia** caracterizada por ciclos de menstruación regulares pero con una mayor frecuencia entre ellos a expensas de la fase folicular y que tiende a producirse alrededor de los 40 años. A nivel hormonal se observan alteraciones en el sistema endocrino, representándose por un incremento de la hormona folículo estimulante (FSH) durante la fase folicular temprana inicialmente y posteriormente durante toda la fase folicular. Es característico que la hormona luteinizante (LH) esté aumentada en las fases más próximas a la menopausia. Se trata de un periodo amplio en la vida de la mujer extendiéndose desde la época de la madurez y plena capacidad reproductiva hasta la vejez (Cano, 1996a).

La **Perimenopausia** es el siguiente estadio, donde se reduce el número de ciclos ovulatorios, siendo además irregulares, alternándose ciclos ovulatorios con ciclos anovulatorios. Se produce una disminución de carácter progresivo en el número de folículos en el ovario y por tanto de la producción hormonal. Hay aumento de gonadotrofinas, persistiendo más alta la FHS que la LH (Reyes et al., 1977). En este estadio las concentraciones de estrógenos comienzan a presentar fluctuaciones. Ante la presencia de ciclo menstruales irregulares, el patrón anovulatorio que acontece determina sangrados abundantes (Lee et al., 1988). Dichos patrones irregulares se producen como consecuencia de los péptidos ováricos, de entre los cuales destaca la inhibina. Dicho péptido tiende a disminuir durante esta etapa y es considerado como uno de los marcadores más fidedigno del número de folículos restantes (Cano, 1996b, Sherman, 2005). Las mujeres en perimenopausia presentan concentraciones plasmáticas de inhibina variables (Hee et al., 1993).

Este término hace referencia a los años previos a la menopausia estableciendo no sólo fluctuaciones hormonales sino también manifestaciones clínicas evidentes. Durante este periodo de tiempo se incluye el año posterior a la última menstruación.

Finalmente, la **Postmenopausia** es el período donde no existe una producción hormonal inducida por los folículos, caracterizándose por concentraciones de estradiol y progesterona casi imperceptibles. Durante este estadio tiende a disminuir la androstendiona de origen folicular; sin embargo, la cantidad de testosterona así como la androstendiona circulante, sigue sintetizándose en el estroma ovárico, modificándose la proporción existente entre estrógenos y andrógenos con lo que pueden manifestarse signos de hirsutismo. Es en esta etapa de la vida donde el ovario pierde su función folicular, desaparecen las hormonas sexuales, aunque se ha demostrado que es posible encontrar folículos con capacidad de segregar estrógenos durante los primeros años de la menopausia (Cano, 1996a). La postmenopausia define al estadio que se inicia inmediatamente tras la menopausia y abarca un periodo de aproximadamente diez años de duración, prolongándose hasta la senilidad (Cano, 1996b).

1.1.1.- MENOPAUSIA PRECOZ

La menopausia precoz se define como la ausencia de la menstruación y de la función ovárica en mujeres con edades por debajo de los 40 ó 45 años. Este hecho implica una pérdida de la capacidad reproductiva de la mujer antes de tiempo e insta a que padezcan determinados síntomas de enfermedades más propias de edades avanzadas.

La aparición de la menopausia de forma precoz se ha asociado a diferentes causas; antecedentes familiares, a consecuencia de una doble anexectomía, por anomalías genéticas o bien por otras razones (infecciones, tumores, tabaco, ...)(Palacios et al., 2013).

De entre los factores anteriormente nombrados, aquellos que han establecido una clara asociación en la edad de aparición de la menopausia son (Yasui et al., 2012):

1. *Antecedentes familiares:*

El factor genético es fundamental en el desarrollo de la menopausia en la vida de la mujer pues determina el número exacto de óvulos que va a presentar. Ello es importante porque en el momento del nacimiento, la mujer nace con un número determinado de óvulos que irá consumiendo de forma gradual a lo largo de su vida fértil hasta llegar a la menopausia, donde desaparecerán de forma completa. Diversos estudios han puesto de manifiesto que la menopausia tiende a instaurarse más precozmente de forma directamente proporcional al número de embarazos y partos.

2. *Raza y clima:*

Se ha establecido que las mujeres de razas mediterráneas y africana suelen tener la menopausia a edades mas tempranas que las mujeres nórdicas. También se ha establecido que la altitud es un factor determinante, así mujeres que viven la altitudes elevadas (mas de 2.000-3.000 metros) presentan la menopausia de 1 a 1,5 años antes que aquellas que viven en altitudes menores de 1.000 metros.

3. *Tabaquismo:*

Los estudios avalan que aquellas mujeres que consumen tabaco pueden manifestar la menopausia de forma más precoz. Los mismos estudios hacen referencia a la dosis de cigarros consumidos, así pues, dosis de tabaco superior a 10 cigarros por día tiene un efecto antiestrogénico, lo que aumenta el riesgo de aparición anticipada de trastornos vinculados a la depleción estrogénica en sangre, principalmente, osteoporosis y cardiopatía isquémica (Sun et al., 2012).

4. *Bajo nivel socioeconómico:*

Se ha establecido que el consumo de una dieta durante la infancia influye en el crecimiento lineal y tasa de depleción de los folículos ováricos influyendo por tanto en la edad de aparición de la menopausia.

La desaparición prematura de las hormonas sexuales femeninas, estrógenos principalmente, conlleva a la aparición de los síntomas menopáusicos característicos de forma más acusada. Es importante tener en cuenta que aquellas mujeres que desarrollen una menopausia precoz, estarán más años sin protección hormonal, lo que podría aumentar el riesgo de padecer las consecuencias de la pérdida estrogénica a medio y largo plazo (Sun et al., 2012, Yasui et al., 2012). Es por ello que los especialistas aconsejan el empleo de la terapia hormonal sustitutiva, de manera que se reduzca la posibilidad de desarrollar un envejecimiento prematuro.

1.1.2.- MENOPAUSIA QUIRÚRGICA

La menopausia quirúrgica se define como el cese de la menstruación como consecuencia de la extirpación los dos ovarios (doble anexectomía), o bien, el útero junto con los dos ovarios (histerectomía con doble anexectomía) (Cuadros et al., 1999).

Dicho procedimiento se produce con mayor frecuencia en mujeres con una edad media de 40,9 años coincidiendo con el periodo perimenopáusico de las mismas (Ravnikar and Chen, 1994). La causa más frecuente para realizar este procedimiento es debido a la presencia de miomas uterinos seguido de la metropatía hemorrágica.

1.2.- FISIOLÓGÍA DE LA MENOPAUSIA

El ovario se caracteriza por sintetizar una serie hormonas sexuales femeninas de forma limitada (estrógeno, progesterona y testosterona en cantidades reducidas), desde estadios de pubertad hasta la menopausia. Dichas hormonas sexuales ejercen su acción sobre determinados órganos y tejidos provocando la aparición del ciclo menstrual. Como consecuencia, en cada ciclo se induce a la liberación de un óvulo fecundable de forma mensual; cuando dicho óvulo no es fecundado se produce la menstruación.

La menopausia es una alteración fisiológica que se produce por agotamiento de la capacidad folicular del ovario. Dicha capacidad folicular varía según el periodo de la vida en que se encuentre la mujer, así como del momento del ciclo menstrual en el que se halle durante su vida reproductiva.

Las hormonas sexuales femeninas inducen una serie de estímulos hasta el sistema nervioso central donde, tras su integración e interpretación, se emite unas señales periódicas a la hipófisis. La hipófisis responde a dichas señales con la liberación gradual de gonadotrofinas, entre las que destacan la hormona estimuladora del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Dichas hormonas son las encargadas de supervisar el crecimiento y desarrollo del folículo ovárico. El incremento de la concentración de estrógenos en sangre hasta alcanzar una cantidad determinada induce una señal en el hipotálamo estableciendo de que el óvulo está cualificado para desarrollar la siguiente fase. Dicha información es transmitida por medio de la liberación gradual de gonadotrofina hipotalámica a la hipófisis para que induzca a la producción de LH, con lo que finaliza la etapa de maduración del óvulo, promoviendo finalmente la rotura folicular y la salida de éste. Es en este mismo momento cuando se está desarrollando el cuerpo lúteo.

Será el cuerpo lúteo el encargado de asumir, a partir de esta fase, la producción de estrógenos y progesterona durante aproximadamente unos 14 días. Durante este periodo la concentración de hormonas disminuye resultando en la menstruación que establece la respuesta de la capa interna del útero.

Conforme va pasando los años en la vida de una mujer, el número de óvulos disminuye de forma equivalente a la disminución en la producción de hormonas sexuales. Este hecho conlleva que aproximadamente a los 50 años el ovario no produzca apenas hormonas sexuales que estimulen al endometrio lo que provoca que desaparezca la menstruación estableciendo la menopausia (Farage et al., 2009).

Por tanto, los estrógenos ejercen una retroalimentación negativa actuando en la secreción de las gonadotrofinas. Al instaurarse la menopausia se produce una reducción en la concentración de estrógenos en sangre, la autorregulación negativa tiende a desaparecer aumentando los niveles de FSH y LH que son consideradas las responsables de la sintomatología climatérica. Con la edad parece ser que se influye en el eje hipotalámico que ejerce control sobre la gonadotrofinas bien por un efecto directo sobre las neuronas o bien sobre factores que regulan la secreción de GnRH (Genazzani et al., 1997). La menopausia se asocia a alteraciones en los neurotransmisores hipotalámicos así como a una modificación de la conexiones neuronales (Lobo et al., 1984). La norepinefrina actúa estimulando la liberación de GnRH mientras que el efecto inhibitorio es ejercido por las betaendorfinas (Rasmussen, 1986).

Tanto a nivel del hipotálamo como en el sistema límbico se produce una reducción del tono dopaminérgico al mismo tiempo que un aumento del tono noradrenérgico asociado una disminución en la actividad opioide y, un debilitamiento del sistema serotoninérgico. Las consecuencias clínicas de estas variaciones a nivel hipotalámico pueden ser los sofocos, la obesidad y la hipertensión asociadas a la menopausia (Genazzani and Bernardi, 2002).

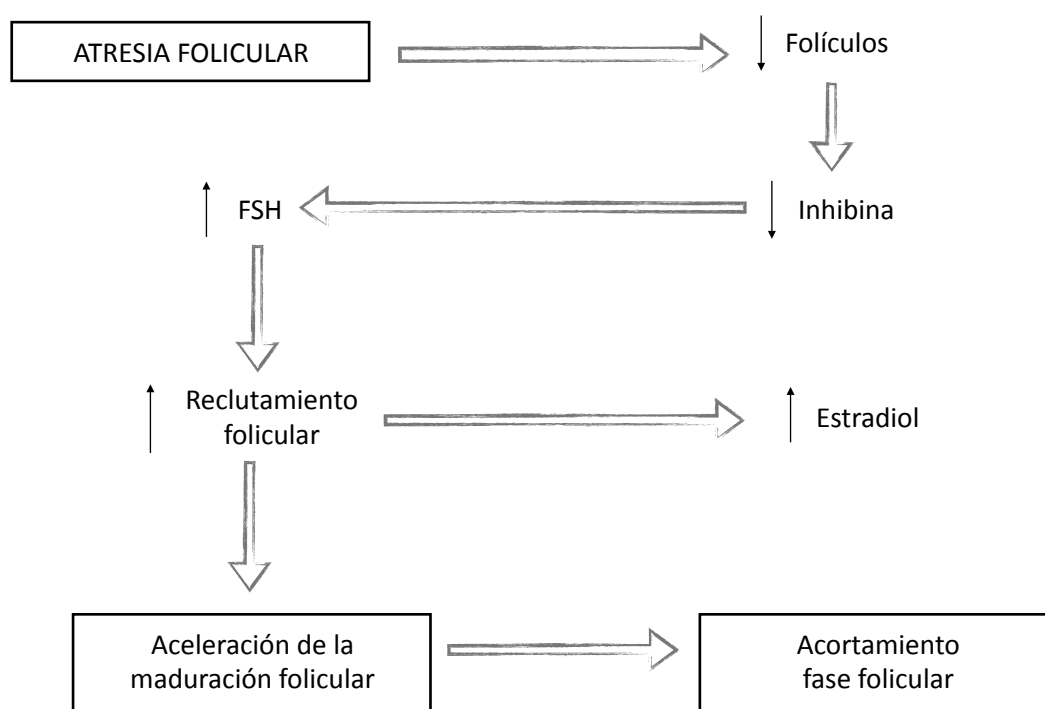


Figura 3. Fisiología de la menopausia

Una vez se instaura la menopausia se establecen unos niveles de estradiol circulante de aproximadamente 10-20pg/mL, proviniendo la mayor parte de ésta de la conversión periférica del estrona (Meldrum et al., 1981, Judd et al., 1982). Se produce por tanto un cambio de prevalencias, ya que durante el ciclo ovárico el 17 beta-estradiol constituye el estrógeno mas importante, disminuyendo considerablemente en la postmenopausia; los niveles plasmáticos de estrona en mujeres postmenopáusicas son mas altos que los de estradiol (aproximadamente 30-70 pg/mL) (Gonzalez, 1997).

Durante la menopausia, como consecuencia de la depleción estrogénica, se produce un cambio en el coeficiente andrógenos/estrógenos. Conforme van pasando los años los niveles de DHA y DHA-s son menores, manteniéndose de forma relativamente estable los niveles de androstendiona, testosterona y estrógenos circulantes (Meldrum et al., 1981, Jiroutek et al., 1998).

1. 3.- MANIFESTACIONES FISIOLÓGICAS DE LA MENOPAUSIA

Las enfermedades que con mayor frecuencia acontecen en mujeres en período perimenopáusico y postmenopáusico son las cardiovasculares y las neoplasias malignas. Dichas manifestaciones como consecuencia del déficit estrogénico presentan una aparición secuencial en el tiempo en relación con la fecha de la menopausia (Whitehead and Godfree, 1992a).

En un primer momento, tras el cese inmediato de la menstruación e incluso en las etapas previas se ponen de manifiesto *síntomas neurovegetativos* tales como palpitaciones, parestesias, náuseas, cefaleas, vértigos y acúfenos así como *síntomas psíquicos* como nerviosismo, irritabilidad, estado de ánimo depresivo, disminución de la libido e inestabilidad emocional.

El síntoma más frecuente descrito durante el menopausia son los sofocos, afectando a un 40% de mujeres en perimenopausia y alcanzando valores de hasta el 85% en postmenopausia (Dennerstein et al., 1993); persistiendo periodos de 1-2 años aunque en aproximadamente el 25% de los casos presenta una duración de hasta 5 años (von Muhlen et al., 1995). Las alteraciones nerviosas y comportamentales son el resultado de la ausencia de estrógenos que actúen sobre los receptores estrogénicos específicos localizados en el sistema nervioso central. El mecanismo por el cual se inducen alteraciones en la regulación de la temperatura corporal provocando sofocos son desconocidos, pero se sospecha que pueda estar asociado a acciones hipotalámicas del estradiol.

Posteriormente, en un periodo de tiempo a corto plazo ya durante la postmenopausia se manifiestan *síntomas genitourinarios* como la prurito vaginal, dispareunia, sequedad vaginal, coitorragia, polaquiuria, discurría e incontinencia urinaria; y, *alteraciones cutáneas* como sequedad generalizada y menor elasticidad. El déficit estrogénico es la causa más importante de disfunción del tracto genitourinario en la menopausia (Gould et al., 1983) pudiendo aparecer varios años después de la misma, aunque también hay casos descritos durante el periodo de la perimenopausia (Samsioe et al., 1985). El 30% de las mujeres postmenopáusicas presentan incontinencia urinaria, dicho porcentaje tiende a incrementarse con la edad (Stenberg et al., 1996). Se establece que los estrógenos estimulan la síntesis de colágeno en piel, mucosas y tejido conectivo por lo que la falta de éstos sería un factor que contribuiría a una atrofia de los distintos órganos, especialmente a nivel de vulva y vagina.

Por último, y no por ello menos importante, a largo plazo se ponen de manifiesto los *síntomas tardíos* asociados al riesgo vascular principalmente accidentes cerebro-vasculares e infartos de miocardio y, la osteoporosis.

Los estrógenos ejercen efectos beneficiosos a nivel del aparato circulatorio actuando sobre los vasos sanguíneos, la musculatura cardíaca, y el mecanismo del colesterol. Por ello, es característico que durante la menopausia pueden aparecer alteraciones tales como hipertensión o aumento de colesterol debido a la ausencia del efecto protector del estrógeno sobre el perfil lipídico (Stampfer and Colditz, 1991). La enfermedad cardiovascular se considera el primer motivo de morbilidad y mortalidad en mujeres postmenopáusicas (Grodstein et al., 1997).

Uno de los trastornos con mayor prevalencia en las mujeres postmenopáusicas es la osteoporosis, el cual está inducido por la depleción estrogénica y su acción directa sobre la reducción de la masa ósea calcificada (van Geel et al., 2006). La osteoporosis es una alteración ósea relacionada con la edad, caracterizada por una reducción de la masa ósea y por una elevada susceptibilidad a sufrir fracturas, a falta de otras causas reconocibles de pérdida ósea. Se altera la microestructura del hueso, las trabéculas se adelgazan y muchas de ellas se rompen de forma irreversible. Con ello, la fuerza física del esqueleto disminuye haciéndose los huesos menos resistentes a las tensiones musculares así como a los traumatismos externos. El riesgo de fractura aumenta por debajo de determinados umbrales que son específicos para cada tipo de hueso.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha basado el diagnóstico de la osteoporosis en la presencia de una densidad mineral ósea (DMO) en la columna vertebral de 2.5 desviaciones estándar (DE) por debajo de la media de adultos jóvenes (Perez et al., 2009). Usando esta definición, el 30% de las mujeres menopáusicas tendrían osteoporosis y un número mayor presentarían osteopenia (una DMO de 1 DE por debajo de la media de adultos jóvenes). La osteoporosis postmenopáusica se caracteriza por una pérdida preferencial de hueso trabecular (laminar) y la senil por una pérdida mayor de hueso compacto (cortical). En la mujer, la pérdida global de hueso compacto oscila entre 20-30%, mientras que la de hueso laminar alcanza el 50%. La masa ósea existente al inicio de la osteoporosis determina el umbral crítico para las fracturas. En general, los varones tienen una masa ósea mayor que las mujeres. Este hecho, junto con la ausencia de osteoporosis de tipo I (postmenopáusica) son las razones que justifican que el aumento de la incidencia de fracturas en el varón sea mucho más tardío.

Ambos sexos pierden cada año alrededor del 1% de la masa ósea a causa de la osteoporosis tipo II (senil), proceso que se mantiene hasta el final de la vida. Aún siendo el ritmo de pérdida de la masa ósea distinto en función del sexo, la proporción de individuos con manifestaciones clínicas de osteoporosis en la octava década de la vida es la misma para ambos sexos. La osteoporosis va a afectar a toda la población en edades avanzadas, aunque sólo será clínicamente evidente en algunos individuos, especialmente mujeres.

Además de las manifestaciones sistémicas de la menopausia, ésta también presenta varias manifestaciones en la cavidad bucal (Ben Aryeh et al., 1996). La principal manifestación oral de la menopausia es el síndrome de boca ardiente. Otras manifestaciones orales son la xerostomía, disgeusia, disfagia, disestesia, gingivitis descamativa crónica así como una mayor prevalencia de caries, gingivitis y periodontitis. Otro síntoma frecuente es la xerostomía ya que el flujo salival tiende a decrecer con el incremento de la edad. También se ha descrito un incremento en la incidencia de determinadas afectaciones en las mucosas tales como liquen plano, el penfigoide benigno de las mucosas, o el síndrome de Sjögren (Frutos et al., 2002).

El síndrome de boca ardiente (SBA), también conocido como glosodinia, glosopirosis, glosalgia, ardor bucal, estomatodinia y estomatopirosis, se caracteriza por la sensación de ardor intenso y continuado que se alterna con una sensación de quemazón espontánea afectando sobre todo a la lengua y, en ocasiones, a la encía y los labios. Se caracteriza también por alteraciones en el gusto, aliento, sequedad bucal que cursa con dificultad para tragar así como dolor facial o dental. A pesar de la sintomatología descrita, no cursa con lesiones clínicas reconocibles (Zakrzewska, 1996). El estudio clínico llevado a cabo por Wardrop y col. determinó una mayor prevalencia de sintomatología oral en mujeres en perimenopausia y postmenopausia (43%) en comparación con aquellas en premenopausia (6%). Dicha asociación se estableció también entre la sintomatología oral y los síntomas psíquicos (Wardrop et al., 1989).

El estudio realizado por Volpe y cols. estableció como una de las causas del SBA la depleción de estrógenos que acontece en la menopausia, poniendo de manifiesto la importancia de la terapia hormonal sustitutiva. Evaluaron el efecto de la terapia hormonal sustitutiva sobre la incidencia de manifestaciones orales en 87 mujeres postmenopáusicas determinando que aproximadamente el 85% de las mujeres que empleaban dicha terapia hormonal presentaban mejoras clínicas (Volpe et al., 1991, Forabosco et al., 1992).

Recientemente se ha llevado a cabo un estudio con el fin de evaluar la asociación entre diversos factores patogénicos y el SBA para determinar si su incidencia es mayor en mujeres postmenopáusicas alterando la calidad de vida de las mismas. Se realizó un estudio retrospectivo sobre 736 historias clínicas con pacientes diagnosticados de SBA y 132 historias clínicas de pacientes control determinando que el SBA estaba asociado a hábitos parafuncionales como el bruxismo y movimientos anormales de lengua y labio. Establecen que dicho síndrome en mas acusado en mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes quizás al modular otros factores de alguna modo (Chimenos-Kustner et al., 2016).

Otro síntoma frecuente es la aparición de xerostomía. Diferentes estudios han demostrado la presencia de receptores de hormonas sexuales, principalmente aldosterona, en las glándulas salivales. Se sabe que con el incremento de la edad tiende a decrecer el flujo salival aunque es difícil establecer que la menopausia sea un factor desencadenante. Existe controversia en la literatura respecto del tema, así Ship y col. determinaron que en una población de mujeres postmenopáusicas no presentaban disminución del flujo salival respecto de aquellas en premenopausia (Ship et al., 1991).

Por el contrario, existen estudios que determinan que si existen tales diferencias presentando aproximadamente un 45% de las mujeres sintomatología asociada con xerostomía pero sin encontrar diferencias respecto a la composición ni al volumen de flujo salival entre grupos (Ben Aryeh et al., 1996). Streckfus y cols. determinan que las mujeres postmenopáusicas presentan depleción del flujo salival de la glándula submandibular y sublingual, tanto ante estimulación como no, comparado con mujeres en premenopausia (Streckfus et al., 1998).

Aryeh y cols. determinan que las diferencias entre los síntomas descritos por las mujeres postmenopáusicas y los niveles de flujo salival se deben a cambios cualitativos indeterminados, a un desequilibrio entre las diversas glándulas o a una alteración de los receptores sensoriales en las superficies mucosas. Por otra parte, además de los cambios en el flujo salival, la menopausia puede estar asociada a cambios en su composición (Ben Aryeh et al., 1996). Cuando se analiza el efecto que tiene el empleo de la terapia hormonal sustitutiva sobre la producción de saliva también existe controversia ya que, por un lado hay autores que defienden su papel protector (Yalcin et al., 2005) frente a otros que no lo avalan (Streckfus et al., 1998). Es importante considerar no sólo la influencia de la menopausia en la xerostomía sino también, el consumo de medicamentos asociados a esta etapa de la vida.

La depleción del flujo salival se asocia con la mayor prevalencia de caries en mujeres postmenopáusicas así como con alteraciones del gusto (Ferris, 1993, Mott et al., 1993).

Otras manifestaciones orales de la menopausia son los problemas periodontales objeto de estudio de este trabajo, el cual desarrollaremos en profundidad más adelante. Se han asociado manifestaciones gingivales tales como la gingivitis atrófica senil o la gingivoestomatitis menopáusica.

1. 4.- TRATAMIENTO DE LA MENOPAUSIA

La terapia hormonal sustitutiva (THS) tiene como objetivos principales mejorar la calidad de vida de la mujer y prevenir las patologías asociadas a la depleción hormonal. Dicha terapéutica se basa en el empleo de preparados farmacológicos, principalmente de origen natural con mínimos o nulos efectos secundarios.

La THS se empezó a establecer como recomendación a partir de un artículo publicado en la revista Newsweek bajo el título *“No more menopause”* en el año 1964 basado en la práctica clínica de un ginecólogo, el doctor Wilson. Este mismo doctor publicó el libro *“Feminine forever”* donde desarrollaba los beneficios del tratamiento con estrógenos exógenos como fuente de juventud así como tratamiento de la tragedia de la menopausia en las mujeres (Wilson, 1968).

La empleo de la THS se basa en la administración de estrógenos exógenos, en ocasiones conjugados con gestágenos, con el fin de evitar posibles alteraciones en el endometrio inducidas por el estímulo estrogénico persistente si existe útero. Existen cuatro formas de administrar la THS: el tratamiento sólo con estrógenos; el tratamiento combinado con estrógenos y gestágenos; el tratamiento sólo con gestágenos, y el tratamiento con estrógenos y andrógenos.

Dentro de los principales fármacos en la THS tenemos a los **estrógenos** los cuales son considerados como la principal causa de la patología climatérica. Dentro de la familia de los estrógenos, los principalmente empleados es el estradiol. El *estradiol* es el estrógeno natural más activo pudiendo ser administrado por diferentes vías. Por vía oral se administra en forma de valerianato de estradiol, alcanzándose niveles en plasma de 40pg/ml con dosis de 1mg. El principal inconveniente asociado es la circulación hepática.

Por vía parenteral se encuentra en forma subcutánea e intramuscular. También se encuentra por vía dérmica, presentando dos formas, la percutánea y la transdérmica así como la vía sublingual e intranasal. Las principales vías de administración son la oral y la dérmica. La vía parenteral, al no tener el primer paso hepático, presenta un impacto menos perjudicial sobre la coagulación y la tolerancia a la glucosa, además de no elevar los triglicéridos y producir pocas modificaciones hepáticas, digestivas y de nivel de tensión arterial (Palacios, 1992). Con respecto a la dosis, la tasa óptima será aquella que alcance valores plasmáticos similares a los alcanzados en la fase folicular inicial, aproximadamente 40vpg/ml.

En toda mujer que conserve el útero es de obligado cumplimiento la administración de **gestágenos** con el fin de prevenir posibles efectos indeseados tales como la hiperplasia endometrial así como el adenocarcinoma de endometrio. Los gestágenos actúan principalmente alterando la configuración del endometrio con el fin de evitar el posible efecto nocivo del estrógeno. La vía más utilizada en la actualidad es la oral.

Desde la aparición de la progesterona micronizada, la vía vaginal es una alternativa eficaz. También se puede emplear la vía transdérmica, ya que no presenta efectos adversos a nivel del metabolismo lipídico. A diferencia de los estrógenos, el objetivo será prevenir el posible riesgo de patología endometrial, sin contrarrestar los efectos beneficiosos de los estrógenos.

Por último, los **andrógenos** se empleaban en conjunto con los estrógenos, sin embargo en la actualidad presentan escasas indicaciones por lo que tienden a no emplearse.

La THS se emplea para el tratamiento de afectaciones genitales así como de alteraciones generales que acontecen durante la menopausia así como para la prevención de determinadas enfermedades crónicas. En los estadios de premenopausia la THS se emplea para el tratamiento de los ciclos menstruales irregulares así como para la mejoraría y la metrorragia. También es eficaz en el tratamiento de los síntomas vasomotores y alteraciones de sueño y, manifestaciones psicológicas y cambios de humor. Los efectos secundarios son escasos así como dosis-dependiente. Entre los efectos secundarios más frecuentes que derivan de la administración de estrógenos tenemos la mastodinia, el síndrome premenstrual, las parestesias y las cefaleas. Hay que considerar que dependiendo del tipo de gestágeno empleado junto con la pauta de administración establecida, se pueden generar alteraciones tales como hinchazón abdominal, edemas y cambios en el metabolismo lipídico.

Es característico el sangrado vaginal tras la THS pero si éste se inicia antes de lo esperado o es muy abundante, puede que se deba a una dosis baja de gestágenos por lo que requerirá un aumento de la dosis y/o días de administración (Bitzer, 2009).

El desarrollo de estos efectos secundarios así como el miedo a desarrollar cáncer de mama o endometrio, conlleva a que el 40% de las mujeres decida interrumpir el tratamiento durante el primer año.

Con el objetivo de evaluar la concepción que se tiene sobre la terapia hormonal sustitutiva en la sociedad española, se llevó a cabo un estudio transversal en una población de 270 mujeres postmenopáusicas. Del total de la muestra, 180 mujeres tomaban estrógenos exógenos en el momento del estudio y, 90 de ellas los habían consumido en el pasado o nunca los habían tomado. De entre estas últimas, el 43% decían tener preocupación por los efectos adversos de la terapia, siendo el cáncer de pecho su principal inquietud. De entre las consumidoras de estrógenos exógenos, sólo el 9.4% eran reacias a su consumo y lo mantenían por su eficacia contra los síntomas climatéricos, por prescripción médica o, por la calidad de vida obtenida (Castelo-Branco et al., 2007).

Los datos obtenidos de este estudio sobre la sociedad española, concuerdan con los datos de cumplimiento de la terapia hormonal sustitutiva, con la población europea. Así, se sabe que el consumo de la terapia hormonal sustitutiva entre mujeres postmenopáusicas abarca entre un 3-20% de la población; que tras dos años de terapia aproximadamente la mitad de la población abandona la misma alcanzando cifras de hasta el 70% de abandonos a los 5 años (Koster, 1990).

Baladé-Martínez y cols. establecen que el empleo de la terapia hormonal sustitutiva en España en mujeres postmenopáusicas ha descendido de manera exponencial en los últimos años, pasando de 33,12 dosis diarias definidas dispensadas por cada 1.000 habitantes y día (DHD) en el año 2000 a 5,31 DHD en el año 2014, constituyendo un descenso del 83,95% (Balade Martínez et al., 2016). Este descenso en el empleo de la terapia hormonal sustitutiva de 7 por cada 1.000 mujeres en el año 2001 a 2 por cada 1.000 mujeres en el año 2014 se debe a la publicación de estudios que alertaron sobre la posibilidad de aumento de riesgo coronario y cáncer de mama entre otros (von Elm and Egger, 2004).

El descenso mas acusado acontece para el consumo de estrógenos no combinados, aunque a partir del año 2004 dicho descenso fue común para todos los grupos terapéuticos empleados en la terapia hormonal sustitutiva. Quizás el estudio que mas repercusión obtuvo fue el *Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study* - HERS- el cual no describió beneficios en el consumo de estrógenos exógenos en términos de morbilidad cardiovascular aunque si un riesgo elevado de desarrollar episodios tromboembólicos (Hulley et al., 1998). Es en el año 2008 donde se aprecia un incremento en el consumo siendo los estrógenos asociados con progestágenos los mas empleados debido a cambios en la evidencia de la seguridad de la terapia hormonal sustitutiva así como a las diferencias observadas en el riesgo de cáncer de endometrio que parece ser de mayor importancia en las mujeres tratadas con estrógenos con combinados.

Al mismo tiempo que ejerce un efecto beneficioso a nivel sistémico, se ha propuesto que puede tener dicho efecto en la cavidad oral contribuyendo al mantenimiento del hueso alveolar, las piezas dentales así como promoviendo una mejoría de los parámetros clínicos periodontales, principalmente del nivel de inserción clínica.

Los mecanismos precisos por los cuales los estrógenos contribuyen a la retención de los dientes aún se desconocen, pero se han propuesto las siguientes hipótesis: reducción de la resorción ósea, aumento de la densidad ósea y disminución de la inflamación de los tejidos periodontales. Estos efectos podrían ocurrir a través de la inhibición de las metaloproteinasas de la matriz, la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, la estimulación de los osteoblastos, la inhibición de los osteoclastos y otros mecanismos antiinflamatorios.

Varios autores han postulado que la deficiencia estrogénica afecta a la remodelación ósea en áreas con procesos inflamatorios, como la observada en la enfermedad periodontal. Hay varios estudios en humanos que abordan los efectos de la THS sobre la densidad mineral ósea de los maxilares.

2. ENFERMEDAD PERIODONTAL

2.1.- CONCEPTO Y EPIDEMIOLOGIA

La enfermedad periodontal se define como una patología inflamatoria crónica cuyo factor etiológico primario son las bacterias presentes en el biofilm dental afectando a los tejidos periodontales. Dicha afectación infecciosa conlleva la destrucción de los tejidos periodontales de soporte manifestándose clínicamente con la presencia de bolsas periodontales, recesiones gingivales, movilidad y, en última instancia, pérdida dentaria (Socransky and Haffajee, 1992).

Las enfermedades periodontales agrupan dos grupos diferenciados de patologías, la gingivitis y la periodontitis. El término gingivitis hace referencia a la inflamación de los tejidos periodontales con ausencia de pérdida de inserción mientras que por el contrario, el término periodontitis cursa con además de la inflamación con pérdida de inserción y ósea. Las enfermedades periodontales se encuentran influenciadas al mismo tiempo por la respuesta inflamatoria e inmune así como por diferentes factores de riesgo tales como el tabaco, medicamentos, enfermedades sistémicas y variaciones hormonales (Kinane, 2001).

No todos los pacientes con gingivitis desarrollarán una periodontitis. La etiología primaria de ambas es el biofilm microbiano subgingival. El control de este biofilm o placa dental es la manera más eficaz de prevenir y tratar ambas enfermedades. En este proceso de enfermedad inflamatoria persistente tiene lugar una destrucción tisular. La variación en la expresión de la enfermedad es el resultado de la interacción de la genética del hospedador, el entorno y los factores microbianos. A este respecto, los componentes moleculares y celulares implicados en la destrucción de los tejidos periodontales derivan predominantemente del hospedador (Kinane et al., 2005).

Los datos obtenidos de estudios epidemiológicos establecen una prevalencia de periodontitis del 47%, siendo un 80% de los mismos, casos con periodontitis moderada o avanzada (Eke et al., 2012). La prevalencia de la periodontitis es elevada variando de unas poblaciones a otras. La prevalencia de la periodontitis en la sociedad española presenta una tendencia al alza en la población adulta con acceso a cuidados bucodentales ya que aproximadamente el 25% de los adultos con edades comprendidas entre 35-44 años presentan una pérdida de inserción de 4-5mm, y más del 5% ,mayores o iguales a 6mm (Llodra Calvo et al., 2012).

En general, los datos muestran un descenso en los valores del Índice Periodontal Comunitario en los adultos jóvenes con el paso de los años. En la década de los 80 la prevalencia de bolsas periodontales se establecía en un 46%, reduciéndose dicho valor hasta un 26% en el años 2000, hasta alcanzar valores de 25,4% en el años 2005. No obstante, considerando todos los parámetros clínicos en conjunto podemos terminar que aproximadamente el 30% de la población española presenta algún grado de patología periodontal (Llodra Calvo et al., 2012).

2.2. ETIOLOGIA Y PATOGENIA DE LA PERIODONTITIS

La etiología de la periodontitis es multifactorial, pero las bacterias son consideradas agentes etiológicos primarios cuyo papel en el inicio de la enfermedad y posterior desarrollo es fundamental. Estos microorganismos son capaces de adherirse a la superficie de los dientes y organizarse en comunidades bacterianas, formando una compleja estructura denominada biofilm (Marsh, 2005). Dicho biofilm se ha definido como: “comunidad bacteriana inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que se hallan unidas a un sustrato o unas a otras, que se encuentran embebidas en una matriz extracelular producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular o la expresión de sus genes” (Costerton et al., 1987, Donlan and Costerton, 2002).

El desarrollo y maduración del biofilm bacteriano induce a la liberación de una serie de factores de virulencia, conocidos como antígenos, en el surco gingival por parte de los periodontopatógenos, algunos de los cuales tienen la capacidad de evadir el sistema inmunitario del huésped y ocasionar un daño directo sobre los tejidos que conforman el periodonto. La presencia de estos antígenos bacterianos provoca una reacción inflamatoria local así como a la atracción de una gran cantidad de leucocitos polimorfonucleares (PMN) que se encuentran de forma abundante en el tejido conectivo. La migración por atracción de los PMN hacia la zona de interacción se produce gracias a fenómenos de adhesión y quimiotaxis desde el epitelio hacia el fluido gingival crevicular. La migración de los PMN a través del epitelio conlleva consigo la destrucción de los hemidesmosomas entre las células epiteliales de los tejidos que conforman el periodonto. Dicha ruptura está inducida por la presencia de diferentes especies reactivas del oxígeno (O_2^- , H_2O_2 , $HOCl$ y el radical $\cdot OH$), siendo los PMN activados los que inducen su síntesis (Waterman and Sha'afi, 1995).

La destrucción de los tejidos que conforman el periodonto también se ve influenciada con el incremento en la síntesis de óxido nítrico sintetasa inducible como consecuencia al estímulo inflamatorio (Batista et al., 2002). Todos estos procesos oxidativos, junto con la acción de otras células inmunológicas, inducen alteraciones morfofuncionales en las moléculas que conforman el endotelio de los vasos sanguíneos y en última instancia en los tejidos que conforman el periodontal mediante su vascularización (Chapple, 1997). Tras la migración, una vez ubicados en el surco gingival, los PMN activados eliminan a los periodontopatógenos así como a sus antígenos por medio de fenómenos de opsonización, fagocitosis y lisis celular.

La progresión desde estadios de gingivitis a periodontitis se produce por el avance del “frente inflamatorio” a zonas más profundas del tejido conectivo. Dicha progresión se produce por medio de un mecanismo por el cual las bacterias adquieren la habilidad de penetrar en el tejido conectivo o por un mecanismo por el cual las defensas del huésped son alteradas permitiendo dicha invasión. La progresión de dicho frente conformado por bacterias y sus productos de virulencia (lipopolisacáridos) inducen la expresión de citoquinas pro-inflamatorias entre las que destacan la interleucina-1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral (FNT). Dichas citoquinas pro-inflamatorias inducen a su vez a mediadores de la inflamación secundarios amplificando el grado de inflamación (Offenbacher, 1996). Los mediadores de la inflamación inducen al mismo tiempo la apoptosis de fibroblastos minimizando la capacidad reparadora del tejido periodontal (Graves et al., 2001). La activación de esta cascada inflamatoria conlleva la estimulación de la osteoclastogénesis, destruyendo consigo el hueso alveolar.

La presencia de dichas citoquinas pro-inflamatorias desempeña un papel importante en la migración del frente inflamatorio en dirección apical bien por medio de una activas enzimática proteolítica inducida por el grado de inflamación o bien porque dichas citoquina penetran alcanzado una posición cercana al hueso (Cochran, 2008).

Diversas investigaciones han determinado que las citoquinas pro-inflamatorias IL-1 β , IL-6, IL-11, IL-17, PGE2 y FNT- α , presentan la capacidad de inducir la osteoclastogénesis mediante el incremento de la expresión de RANKL (ligando del receptor del factor nuclear kappa-beta) mientras se disminuye la producción de OPG (osteoprotegerina) en las células progenitoras de osteoclastos. En contraste, mediadores antiinflamatorios como IL-13 e INF- γ , pueden disminuir la expresión de RANKL y/o incrementar la expresión de OPG para inhibir la osteoclastogénesis (Nakashima et al., 2000).

2.3. TRATAMIENTO PERIODONTAL NO QUIRÚRGICO

El papel que desempeña el biofilm dental como factor etiológico primario de la enfermedad es bien conocido y aceptado por lo que el principal objetivo del tratamiento periodontal será el control de la placa dental (Slots and Ting, 1999). El tratamiento no quirúrgico tiene por finalidad la eliminación de las bacterias que viven inmersas en el biofilm bacteriano y de los microorganismos de la biopelícula calcificada adherida a la superficie dentaria y los tejidos blandos adyacentes.

El tratamiento periodontal no quirúrgico consistente en el desbridamiento mecánico de la raíz ha demostrado ser eficaz obteniendo resultados clínicos tales como mejoría de la salud periodontal, disminución en la pérdida de inserción clínica y por lo tanto, reducción de la pérdida dentaria (Knowles et al., 1979, Axelsson and Lindhe, 1981, Lindhe and Nyman, 1984).

El desbridamiento mecánico consiste en el raspado y alisado radicular (RAR) que permite eliminar de manera mecánica el biofilm subgingival removiendo el cálculo adherido a la superficie radicular, así como la eliminación de todo factor retentivo que favorezca la formación del biofilm (Hung and Douglass, 2002). La eficacia del tratamiento periodontal no quirúrgico esta bien documentada en revisiones sistemáticas y narrativas donde se evalúa su mejoría de las variables clínicas en base a la ganancia del nivel de inserción clínica, la reducción en la profundidad de sondaje y en la reducción de las frecuencias de sangrado al sondaje (Cobb, 1996, Van der Weijden and Timmerman, 2002, Adriaens and Adriaens, 2004, Suvan, 2005). Se ha demostrado que el RAR es capaz de incrementar de forma significativa el nivel de inserción clínica entre 0,55 y 1,29mm así como reducir la profundidad de sondaje entre 1,29 y 2,16mm (Sanz et al., 2008). La reducción en la profundidad de sondaje tras RAR resulta de la combinación de ganancia en el nivel de inserción y desarrollo de recesión gingival (Hughes and Caffesse, 1978, Proye et al., 1982).

Durante el tratamiento periodontal no quirúrgico es necesario la presencia de un estricto control de placa por parte del paciente para alcanzar resultados óptimos y su posterior mantenimiento a largo plazo (Axelsson et al., 2004). La literatura científica avala el empleo de instrumentos sónicos, ultrasónicos o piezoeléctricos así como el de curetas para la realización del desbridamiento mecánico sin que se establezcan diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (Matuliene et al., 2010). Los estudios avalan que la instrumentación manual conlleva más tiempo en alcanzar los mismos resultados finales respecto a variables clínicas que los obtenidos con instrumentos sónicos y/o ultrasónicos

Autor/Año	Material/Método	Variables Clínicas	Resultados
<i>Santos</i> 2012	ECA a 12 meses Diseño paralelo TEST: FMSRP 2 sesiones en 24 horas CONTROL: RAR 2 sesiones en 21 días	IP, SUP, Sangrado, PS, NIC, FGC	Ambos procedimientos fueron eficaces en la mejoría de los parámetros clínicos
<i>Knöfler</i> 2011	ECA a 12 meses Diseño paralelo TEST: FMSRP 1 sesión CONTROL: RAR 2 sesiones en 4-5 semanas	Sangrado, PS, NIC, Microbiología	FMSRP comparado con RAR no fue eficaz en la reducción de los periodontopatógenos
<i>Pera</i> 2011	ECA a 6 meses Diseño paralelo TEST: FMUD + dentífrico triclosan CONTROL: FMUD + dentífrico placebo	IP, IG, Sangrado, PS, REC, NIC	El empleo de triclosan proporciona beneficios adicionales en el tratamiento de la periodontitis
<i>Zijnga</i> 2011	ECA a 3 meses Diseño paralelo TEST: FMSRP 1 sesión CONTROL: RAR 3 sesiones en 21 días	IP, Sangrado, PS, Microbiología	Ambos procedimientos fueron eficaces en la mejoría de los parámetros clínicos

Tabla 1 . Estudios que evalúan diferentes procedimientos para el tratamiento periodontal no quirúrgico.

ECA, ensayo clínico aleatorizado; FMSRP, raspado y alisado radicular de boca completa; RAR, raspado y alisado radicular; FMUD, raspado con ultrasonido a boca completa; IP, índice de placa; SUP, supuración; PS, profundidad de sondaje; NIC, nivel de inserción clínico; FGC, fluido gingival crevicular; REC, recesión

La cicatrización posterior al tratamiento no quirúrgico se consigue casi completamente a los tres meses. Diversos estudios han determinado una cicatrización mas lenta hasta aproximadamente los nueve meses tras el tratamiento. La importancia de la revaluación radica en la determinación si el tratamiento quirúrgico ha sido eficaz o si es necesario por el contrario la instauración de tratamientos mas avanzados (Badersten et al., 1984a).

3. ENFERMEDAD PERIODONTAL Y MENOPAUSIA

3.1. PAPEL DE LOS ESTRÓGENOS EN LA PATOGENIA DE LA PERIODONTITIS

Diversas investigaciones han puesto de manifiesto la relación existente entre las enfermedades periodontales y las variaciones en los niveles de hormonas sexuales en los diferentes estadios de la vida de la mujer (Mariotti, 1994, Armitage, 1999b, Leimola-Virtanen et al., 2000, Krejci and Bissada, 2002, Mascarenhas et al., 2003, Guncu et al., 2005).

Estudios clínicos avalan la presencia de receptores diana de estrógenos en las capas endoteliales y espinosa del epitelio gingival humano (Vittek et al., 1982b), en células endoteliales y en peritos de vasos sanguíneos de la lamina propia (Vittek et al., 1982a), en los fibroblastos del epitelio gingival humano junto con la presencia de receptores diana de progesterona (Kawahara and Shimazu, 2003); por el contrario no se ha podido determinar la presencia de dichos receptores diana en las células del ligamento periodontal (Parkar et al., 1996, Jonsson et al., 2005). Al mismo tiempo se ha demostrado que el periodonto es capaz de metabolizar progesterona (el-Attar et al., 1973) y estrona (Holmes and Elattar, 1977) estableciendo tasas de síntesis mayores en periodos de inflamación gingival (Ojanotko-Harri, 1985).

La presencia de dichos receptores hormonales en los diferentes tejidos que componen el periodonto determina que ante variaciones hormonales se produzcan alteraciones vasculares e inflamatorias en los tejidos. Así pues se sabe que el estradiol y la progesterona inducen a una reducción en la tasa del flujo corpuscular, un incremento de la proliferación y permeabilidad vascular (Lindhe et al., 1967). Dichos cambios vasculares son principalmente desencadenados por la progesterona (Mealey and Moritz, 2003). Otra acción importante desencadenada por las hormonas sexuales es el incremento en el volumen del fluido gingival crevicular (FGC) existiendo una correlación entre el aumento del FGC y niveles elevados de dichas hormonas (ElAttar and Hugoson, 1974).

Diversos estudios clínicos han demostrado cómo los estrógenos influyen en la citodiferenciación del epitelio escamoso estratificado, en la síntesis y mantenimiento de las fibras de colágeno (Amar and Chung, 1994), en la producción de líquido del surco gingival y en la microcirculación del mismo (Mariotti, 1994). También se ha demostrado como los estrógenos presentan propiedades antiinflamatorias así como su papel para disminuir la síntesis de prostaglandinas en el periodonto (Grodstein et al., 1996).

Los principales efectos del estrógeno sobre el periodonto son la inhibición de la liberación de citoquinas proinflamatorias por la médula ósea (Gordon et al., 2001), la reducción de la inflamación mediada por las células T (Josefsson et al., 1992), la supresión de la producción de leucocitos por la médula ósea (Cheleuitte et al., 1998), la inhibición de la quimiotaxis de los PMN's (Ito et al., 1995), la estimulación de la fagocitosis por los PMN's (Hofmann et al., 1986) y la reducción de la inflamación gingival (Reinhardt et al., 1999).

Por otro lado, los principales efectos de la progesterona sobre el periodonto son el aumento de la producción de prostaglandinas (Smith et al., 1986), el aumento de los polimorfonucleares y prostaglandina E₂ en el fluido gingival crevicular, la alteración en la síntesis de colágeno (Willershausen et al., 1991), la reducción de los efectos antiinflamatorios de los glucocorticoides (Chen et al., 1977), la alteración del metabolismo de los fibroblastos del ligamento periodontal (Nanba et al., 1989) y aumento de la vascularidad (Abraham-Inpijn et al., 1996).

Se ha especulado con la hipótesis que se necesita de unos niveles de estrógeno en sangre normales para la protección del periodonto ya que parece ser que la cantidad de estrógeno en sangre está inversamente correlacionada con la prevalencia de la enfermedad periodontal (Placak et al., 1998).

La periodontitis presenta consecuencias no solo a nivel oral sino también sistémicas inducidas por los mediadores de la inflamación, siendo dichas relaciones de carácter bidireccional. Existen tres mecanismos de acción que explican la plausibilidad biológica de cómo la periodontitis puede afectar en este sentido: mediante infecciones a distancia resultantes de bacteremias de repetición; mediante procesos de inflamación sistémicas así como, mediante el sistema de inmunidad adaptativa (Van Dyke and van Winkelhoff, 2013).

Por otra parte, cada vez cobra mayor relevancia la repercusión de las enfermedades periodontales sobre ciertas condiciones sistémicas. Diversos estudios implican a la infección periodontal como un factor de riesgo para algunas patologías sistémicas, como las enfermedades cardiovasculares, alteraciones en el adecuado control de la diabetes, ciertas enfermedades respiratorias, obesidad y síndrome metabólico o recién nacidos prematuros y/o con bajo peso al nacer (Dietrich et al., 2013; Ide y Papapanou, 2013; Linden et al., 2013; Taylor et al., 2013). El establecimiento de una relación bidireccional entre la periodontitis y algunas de estas patologías, hace que se aumente la necesidad de realizar un adecuado diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad.

Genco y Grossi han propuesto un modelo en el cual tratan de explicar como la depleción estrogénica que acontece en la menopausia podría ser una factor de riesgo la enfermedad periodontal. En este modelo, la depleción estrogénica junto con los factores de reabsorción ósea estimulados por los periodontopatógenos, inducen a la síntesis de una serie de citoquinas proinflamatorias tales como interleuquina 1 β y factor de necrosis tumoral α . Estas citoquinas proinflamatorias, junto con la actividad de reabsorción ósea, inducen a la síntesis de interleuquina 6, de factor estimulador de colonias de granulocitos/macrófago y, de factor estimulador de colonias de macrófago, los cuales regulan la proliferación de percursoros de osteoclastos así como la activación de estos últimos. Esta casada resulta en el aumento de la inflamación y, de la reabsorción ósea (Genco and Grossi, 1998).

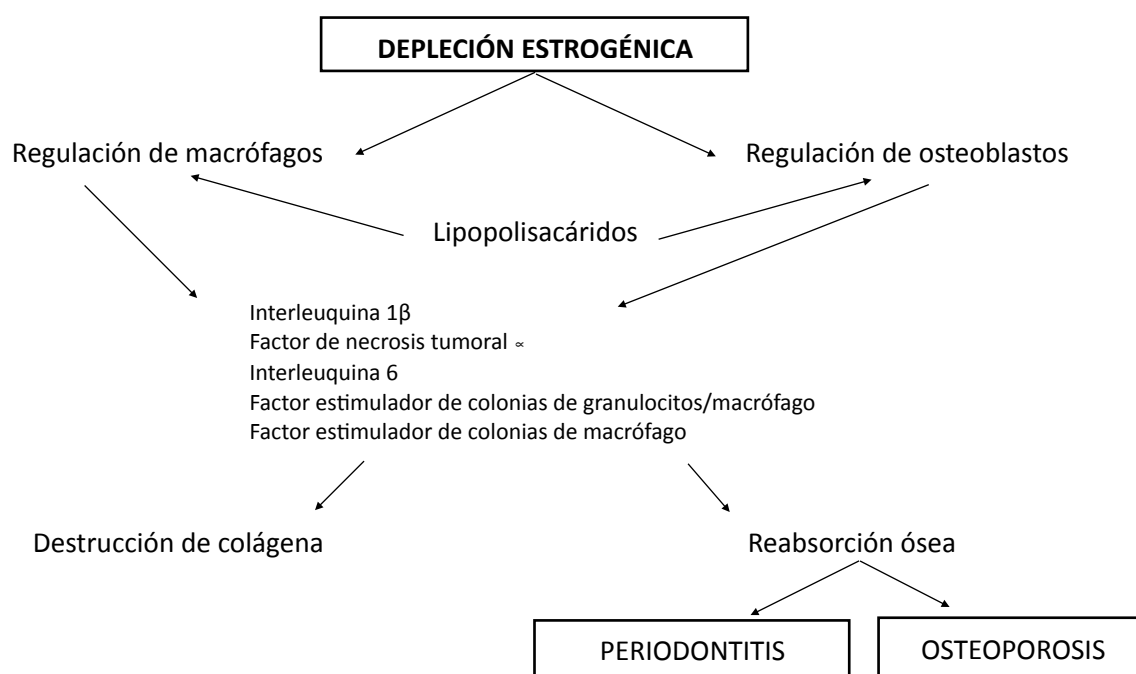


Figura 4. Modelo de cómo la depleción estrogénica contribuye a la enfermedad periodontal

(basado en Genco RJ, Grossi SG. Is estrogen deficiency a risk factor for periodontal disease? *Compend Contin Educ Dent Suppl* 1998; 22:S23-S29)

Los estudios clásicos que evalúan la relación entre la menopausia y la enfermedad periodontal determinan que las mujeres postmenopáusicas con niveles de estrógeno deficientes inmersas en un programa de mantenimiento periodontal tras recibir terapia periodontal básica tienden a desarrollar 3 veces mayor pérdida de inserción clínica interproximal $\geq 0.4\text{mm}$, comparado con aquellas mujeres estrógeno suficientes (Payne et al., 1997). El mismo grupo de investigación determinó que el nivel de estrógeno también influye en las variables clínicas periodontales induciendo a un mayor sangrado al sondaje (43.8 versus 24.4%) y una mayor pérdida de inserción clínica $\geq 2.0\text{mm}$ (3.8% versus 1.2%) en mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes en comparación con aquellas estrógeno suficientes (Reinhardt et al., 1999).

Un estudio clínico llevado a cabo por la Universidad de Salamanca con 210 mujeres postmenopáusicas determinó que la THS induce mejoría clínica en la movilidad dental y la profundidad de sondaje; por el contrario, no encontraron diferencias en relación a la recesión gingival entre grupos (Lopez-Marcos et al., 2005).

Se establece que la probabilidad de desarrollar periodontitis es mayor en mujeres postmenopáusicas que en mujeres premenopáusicas, sosteniendo por tanto la hipótesis del papel defensor del estrógeno en el periodonto. En función del nivel de estrógeno en sangre se determina que aquellas mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes presentarán 2.1 veces más probabilidades de desarrollar periodontitis que las mujeres en premenopausia o estrógeno suficientes (Haas et al., 2009).

Gondim y cols. llevan a cabo un estudio en una población de 148 mujeres postmenopáusicas donde buscan establecer la relación entre el nivel de inserción clínico y, la densidad mineral ósea. Concluyen que el 58,1% de la muestra presenta pérdida de inserción clínica avanzada y que existe una relación inversa entre la densidad mineral y el nivel de inserción clínico (Gondim et al., 2013).

En un estudio transversal que emplea la muestra del *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) para evaluar la asociación entre la enfermedad periodontal y el efecto modificador de la terapia hormonal sustitutiva, estableció que las mujeres postmenopáusicas estrógeno suficientes debido al empleo de la terapia hormonal presentaban una pérdida de inserción clínica menor que aquellas mujeres estrógeno deficientes. Los autores describen un fenómeno de sinergia entre la acumulación de cálculo y la osteoporosis, indicando que el incremento en la pérdida de inserción que presentan las mujeres estrógeno deficientes podría compensarse con protocolos de higiene bucal (Ronderos et al., 2000). Otros estudios, por el contrario, no han demostrado la asociación existente entre ambas entidades sugiriendo que la pérdida de inserción podría deberse al propio envejecimiento (Tezal et al., 2000, Wang et al., 2015).

Pilgram y cols. llevaron a cabo un ensayo clínico aleatorizado a 2 años para evaluar la relación entre los cambios entre la altura ósea alveolar y el nivel de inserción clínico. Para ello estudiaron a una población de 155 mujeres postmenopáusicas que se categorizaron de manera aleatoria en dos grupos; el grupo test recibió THS consistente en 0,625mg Premarin® y, el grupo control que recibió placebo.

A los dos años el tamaño muestral se había reducido a 85 mujeres postmenopáusicas y se estableció que la pérdida de inserción clínica estaba asociada a la pérdida ósea alveolar aunque con una correlación débil ($r=0,0022$) debido quizás a que la pérdida del hueso alveolar precede a la pérdida de inserción (Pilgram et al., 1999).

Un estudio transversal reciente en un población de 80 mujeres postmenopáusicas determinó también que la pérdida de inserción presenta una correlación débil ($r=0.0009$) con la pérdida ósea, estableciendo que la pérdida de inserción no es un predictor de pérdida ósea alveolar. Ello podría deberse a que en este estudio no comparan la muestra con mujeres postmenopáusicas periodontalmente sanas siendo la pérdida de inserción anterior a la menopausia (Sultan and Rao, 2011).

Reinhardt y cols. evaluaron a 128 mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes en terapia periodontal de mantenimiento cada 3 meses durante un período 2 años y, determinaron que únicamente el 2% - 3% de las mismas desarrollaron pérdida de inserción y sólo el 5% - 10% pérdida ósea (Reinhardt et al., 2010).

La prevalencia de la periodontitis en diferentes poblaciones en base a la presencia de al menos una localización con un pérdida de inserción clínica mayor o igual a 5mm fue del 87% entre mujeres de 40 a 69 años en la población portuguesa (Haas et al., 2009), alcanzado valores similares en la población alemana (Holtfreter et al., 2009). Dicha prevalencia se ve reducida en la población americana variando entre 11,4% a 29,8% (Albandar et al., 1999). Sin embargo establecer comparaciones entre los estudios descritos y el presente es difícil debido a diferencias en los tamaños muestrales, el diseño de los estudios así como en las variables analizadas.

Los estudios previos sugieren por tanto que la menopausia podría ser un indicador de riesgo de pérdida de inserción clínica periodontal. Sin embargo, los resultados son contradictorios debido principalmente a limitaciones metodológicas tales como tamaño muestral reducido, poblaciones de estudio que no se pueden comparar así como las diversas definiciones empleadas. Se requiere por tanto, de un estudio en mayor profundidad para poder establecer relaciones causales.

Autor/Año	Material/Método	Variables clínicas	Resultados
Wang 2015	613 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	POI	No asociación entre POI y los niveles de estradiol aunque ES presentaban menor POI
Gondim 2013	148 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	NIC, PS, REC, Sangrado, IP, IC, pérdida dental, DMO	Perdida de NIC es inversamente proporcional a la DMO
Sultan 2011	80 mujeres menopáusicas	DMO, IP, IG, PS, NIC, pérdida dentaria	Pérdida en NIC esta correlacionada con DMO ($r=0,009$) de forma débil
Haas 2009	328 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	NIC	ED presentarán 2.1 veces más probabilidades de desarrollar periodontitis que ES
Tezal 2000	70 mujeres menopáusicas	DMO, NIC, POI, PS, IP, IG, IC	Pérdida en NIC esta correlacionada con DMO ($r=0.002$) de forma débil
Ronderos 2000	11.655 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	PS, NIC, IC, sangrado, DMO	NIC es menor en mujeres postmenopáusicas ES
Norderyd 1993	228 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	IP, IC, PS, NIC, POI, pérdida dentaria	ES presentaban menor IG, menor IP

Tabla 2. Estudios transversales sobre periodontitis y menopausia

DMO, densidad mineral ósea; NIC, nivel de inserción clínico; POI, pérdida ósea interproximal; PS, profundidad de sondaje; IP, índice de placa; IG, índice gingival; IC, índice de cálculo; REC, recesión gingival; ED, estrógeno deficiente; ES, estrógeno suficiente

Autor/Año	Material/Método	Variables clínicas	Resultados
Payne 2013	ECA a 2 años 128 mujeres postmenopáusicas TEST: 20 mg doxicilina CONTROL: placebo	DMO, PS, NIR, POI	No asociación entre POI y menopausia
Reinhardt 2010	Estudio Longitudinal a 2 años 128 mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes	DMO, PS, NIR	Pérdida de inserción de 3-5% a los dos años en ED
López-Marcos 2005	Estudio longitudinal 210 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	Movilidad, REC, PS	PS es menor en mujeres postmenopáusicas ES
Pilgram 1999	ECA a 3 años 155 mujeres postmenopáusicas TEST: THS 0,625mg CONTROL: placebo	PS, REC, POI	Pérdida en NIC esta correlacionada con POI ($r=0.0022$)
Reinhardt 1999	Estudio longitudinal a 1 año 70 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	DMO, IP, IG, PS, NIR	ED presentan mayor IG (43.8 versus 24.4%) y una mayor pérdida de NIC ≥ 2.0 mm (3.8% versus 1.2%) que ES
Payne 1997	Estudio longitudinal a 1 año 24 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	NIC	Las mujeres ED presentan mayor pérdida de NIC $> 0,4$ mm que ES

Tabla 3. Estudios longitudinales sobre periodontitis y menopausia

ECA, ensayo clínico aleatorizado; THS, terapia hormonal sustitutiva; DMO, densidad mineral ósea; NIC, nivel de inserción clínico; NIR, nivel de inserción clínico relativo; POI, pérdida ósea interproximal; PS, profundidad de sondaje; IP, índice de placa; IG, índice gingival; IC, índice de cálculo; REC, recesión gingival; ED, estrógeno deficiente; ES, estrógeno suficiente

En la enfermedad periodontal, la pérdida ósea es el resultado de la respuesta inflamatoria e inmune del huésped (Genco et al., 1988). Mientras que la enfermedad periodontal es un proceso local, la osteoporosis, como manifestación de la menopausia, es un proceso sistémico; la pérdida ósea es la característica común entre ambas entidades (Riggs, 1987). Existe una plausibilidad biológica que explique que al menos parte de la destrucción ósea que acontece en la enfermedad periodontal sea inducida por la pérdida ósea sistémica.

Tezal y cols. evaluaron la relación entre la densidad mineral sistémica y la enfermedad periodontal en un grupo de 70 mujeres postmenopáusicas sin diferenciar entre la severidad de la periodontitis y los niveles de estradiol en sangre. Concluyeron que la osteopenia postmenopáusica es un indicador de riesgo de la enfermedad periodontal en mujeres postmenopáusicas. Además, en su estudio hipotetizan sobre las posibles causas por las que la pérdida ósea sistémica podría implicar una destrucción periodontal más severa. Por una lado, el descenso de la densidad ósea local inducida por la pérdida ósea sistema conduce a una mayor reabsorción del hueso alveolar; a su vez, factores sintéticos del remodelado óseo modificarían la respuesta local a la periodontitis produciendo mayores concentraciones de citoquinas y mediadores de la inflamación; los factores genéticos que inducen a una osteopenia favorecen también el desarrollo de la enfermedad periodontal y, existen ciertos factores ambientales de riesgo tanto para la osteopenia como para la enfermedad periodontal (Tezal et al., 2000).

Los estudios que avalan la relación entre la pérdida ósea como consecuencia de la periodontitis y el efecto de la terapia hormonal sustitutiva son contradictorios. Taguchi y cols. establecen que no existen diferencias en la altura del hueso alveolar oral entre mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes y estrógeno suficientes (Taguchi et al., 2004). A su vez, Norderyd y cols. determinaron que las mujeres estrógeno suficientes presentaban un descenso ligero de la altura ósea alveolar (2.7 ± 0.9 versus 2.8 ± 1.3 mm) respecto de aquellas estrógenos deficientes (Norderyd et al., 1993). Por el contrario, en un estudio clínico aleatorizado a tres años que incluye a 135 mujeres postmenopáusicas, Civitelli y cols. establecieron que aquellas mujeres estrógeno suficientes tenían incrementada la masa ósea del hueso alveolar así como la altura de la cresta ósea alveolar (Civitelli et al., 2002). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Payne y cols. los cuales establecen que las mujeres postmenopáusicas estrógeno suficientes presentaban menor pérdida ósea que aquellas estrógeno deficientes (Payne et al., 1997).

Wang y cols. recientemente han desarrollado un estudio transversal sobre una población de 613 mujeres postmenopáusicas obtenidas del *Buffalo OsteoPerio Study* y han determinado que aquellas mujeres estrógenos deficientes presentan una mayor pérdida ósea así como dos veces mas riesgo de padecer una pérdida de ósea severa (OR 2.00 95% IC 1.11 - 3.62) que aquellas estrógeno suficientes (Wang et al., 2015).

La pregunta sobre si osteoporosis dental es una manifestación local de la pérdida ósea sistémica o si por el contrario, es un proceso independiente inducido por la periodontitis se planteó en la revisión sistemática llevada a cabo por Martínez-Maestre y cols. Se evaluaron 145 estudios que valoraban la relación entre la osteoporosis y la periodontitis, de los cuales sólo se consideraron treinta y cinco. Cinco de nueve artículos que emplean los mismos criterios diagnósticos establecen que no existe asociación entre ambas entidades; estudios que emplean criterios radiológicos del maxilar si que encuentran asociación. Los autores ponen de manifiesto la importancia de estudios controlados para determinar la complejidad de la relación (Martínez-Maestre et al., 2010).

Los estudios llevados a cabo en la población española no se correlacionan los datos obtenidos. Hernández-Vigueras y cols. estudiaron a una población de 76 mujeres postmenopáusicas en la Universidad de Barcelona. Se registraron variables clínicas tales como pérdida dentaria, profundidad de sondaje, estado de higiene oral, índice de dientes con caries, ausentes o careados, xerostomía así como el grado de osteopenia por medio de densitometrías. Determinaron que el 47,9% de las mujeres presentaba periodontitis y que el 78,6% de las mismas padecía de osteopenia o osteoporosis. Sin embargo, el 22,9% de las mujeres que presentaban periodontitis no habían sido diagnosticadas de osteopenia/osteoporosis; el 57,1% de las que presentaban periodontitis padecían osteopenia y, el 20% osteoporosis. Establecen por tanto, que no existe asociación entre osteoporosis/osteopenia y periodontitis (Hernández-Vigueras et al., 2016).

Autor/Año	Material/Método	Variables clínicas	Resultados
Civitelli 2002	ECA a 3 años 155 mujeres postmenopáusicas TEST: THS 0,625mg CONTROL: placebo	PS, REC, POI, DMO	THS aumenta la DMO
Payne 1997	Estudio longitudinal a 1 año 24 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	NIC, DMO	ES presenta una menor pérdida de DMO

Tabla 4. Estudios longitudinales sobre periodontitis y osteopenia/osteoporosis

ECA, ensayo clínico aleatorizado; THS, terapia hormonal sustitutiva; DMO, densidad mineral ósea; NIC, nivel de inserción clínico; POI, pérdida ósea interproximal; PS, profundidad de sondaje

Autor/Año	Material/Método	Variables clínicas	Resultados
Hernández-Vigueras 2016	Estudio Transversal 76 mujeres menopáusicas	DMO, PS, ICAO, pérdida dentaria	No asociación entre osteoporosis/osteopenia y periodontitis
Wang 2015	Estudio transversal 613 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	POI	No asociación entre POI y los niveles de estradiol aunque ES presentaban menor POI
Taguchi 2004	Estudio Transversal 1.914 mujeres menopáusicas	DMO	No asociación entre ES/ED y DMO
Tezal 2000	Estudio Transversal 70 mujeres menopáusicas	DMO, NIC, POI, PS, IP, IG, IC	Pérdida en NIC esta correlacionada con DMO ($r=0.10 - 0.17$)
Norderyd 1993	Estudio transversal 228 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	IP, IC, PS, NIC, POI, pérdida dentaria	No asociación entre ES/ED y DMO

Tabla 5. Estudios transversales sobre periodontitis y osteopenia/osteoporosis

DMO, densidad mineral ósea; NIC, nivel de inserción clínico; POI, pérdida ósea interproximal; PS, profundidad de sondaje; IP, índice de placa; IG, índice gingival; IC, índice de cálculo; ICAO, índice de dientes con caries, ausentes o careados; ED, estrógeno deficiente; ES, estrógeno suficiente

La pérdida dental se considera como la variable principal en la enfermedad periodontal (Machtei et al., 1999). Existe una evidencia limitada sobre la relación entre la menopausia y la pérdida dental. Por un lado, se determina que la presencia del edentulismo es mayor entre las mujeres que presentan déficit de estrógenos y, por otro, como la terapia hormonal sustitutiva se asocia con una mayor prevalencia de retención dental. Krall y cols. observaron que la densidad mineral ósea en las mujeres postmenopáusicas estaba significativamente correlacionada con el número de dientes presentes en la boca (Krall et al., 1994).

Norderyd y cols. en su estudio transversal describen una menor pérdida dental entre aquellas mujeres en postmenopausia estrógenos suficientes debido al empleo de terapia hormonal sustitutiva (Norderyd et al., 1993). Estos hallazgos se corroboran con los obtenidos en el estudio de Klemetti y cols. quienes determinaron que las mujeres postmenopáusicas con una alta densidad mineral retenían un mayor número de dientes que aquellas con baja densidad mineral o diagnosticadas de osteoporosis (Klemetti et al., 1994). Hildebolt y cols. determinaron que la pérdida de inserción clínica estaba correlacionada con la pérdida dental pero no con la densidad ósea de las vértebras o del fémur (Hildebolt, 1997).

Paganini-Hill y cols. determinaron sobre una cohorte de 3.921 mujeres (*The Leisure World Cohort*) que las mujeres estrógenos suficientes durante la menopausia tenían un 36% menos de riesgo de pérdida dental comparado con aquellas estrógenos deficientes (Paganini-Hill, 1995).

En un estudio prospectivo sobre una población de 42.171 mujeres del *Nurses Health Study*, Grodstein y cols. determinaron que el riesgo relativo de pérdida dental fue menor en mujeres postmenopáusicas que empleaban terapia hormonal sustitutiva (RR 0.76 CI 0.72-0.80) independientemente del tipo de dosis así como de la duración de la terapia hormonal sustitutiva (Grodstein et al., 1996).

En un estudio longitudinal a cinco años, LaMonte y cols. establecieron, sobre una población de estudio de 1.025 mujeres postmenopáusicas del *Buffalo OsteoPerio Study*, con diferentes grados de afectación periodontal, que la pérdida dentaria atribuible a la periodontitis ocurrió en un 13% de las mujeres (LaMonte et al., 2013b). Se establece por tanto el papel defensor del estrógeno en el periodonto ya que se puede establecer que mujeres con niveles de estrógeno por debajo de los 30 pg/mL tienen 3.83 veces mayor riesgo de convertirse en edéntulas que aquellas con niveles por encima de los 40 pg/mL (Haas et al., 2009).

Estos resultados se contradicen con los obtenidos por Civitelli y cols. quienes determinan que no existen diferencias en la retención de dientes en función de los niveles de estrógeno en plasma. Infieren en la importancia de variables de confusión como el tabaco pues en mujeres postmenopáusicas fumadoras el efecto de la THS es menor induciendo a un aumento de la IL-6 (Civitelli et al., 2002).

Autor/Año	Material/Método	Variables clínicas	Resultados
Haas 2009	Estudio transversal 328 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	NIC, pérdida dentaria, DMO	ED presentarán 3.83 veces más probabilidades de convertirse en edéntulas que ES
Hildebolt 1997	Estudio transversal 135 mujeres postmenopáusicas	NIC, pérdida dentaria, DMO	La pérdida dentaria se asocia con pérdida de inserción pero no con alteraciones en la densidad mineral ósea
Norderyd 1993	Estudio transversal 228 mujeres postmenopáusicas TEST: estrógeno suficientes CONTROL: estrógeno deficientes	IP, IC, PS, NIC, POI, pérdida dentaria	ES presentaban una menor pérdida dental comparado con ED
Klemetti 1994	Estudio Transversal 227 mujeres postmenopáusicas	CPITN (Ainamo 1982) BMDN BMDL	El CPITN asociación directa con el número de dientes en boca

Tabla 6. Estudios transversales sobre pérdida dentaria y osteopenia/osteoporosis

CPIT, índice de necesidad de tratamiento comunitario; BMDN, densidad mineral ósea del cuello del fémur; BMDL, densidad mineral ósea de la espina lumbar; DMO, densidad mineral ósea; NIC, nivel de inserción clínico; POI, pérdida ósea interproximal; PS, profundidad de sondaje; IP, índice de placa; IC, índice de cálculo; ED, estrógeno deficiente; ES, estrógeno suficiente

Autor/Año	Material/Método	Variables clínicas	Resultados
LaMonte 2013	Estudio longitudinal a 5 años 1.025 mujeres postmenopáusicas	IP; IG, PS, NIC, POI, pérdida dentaria	La pérdida dental ocurrió en un 13% de la muestra
Grodstein 1996	Estudio longitudinal a 2 años 7.353 mujeres postmenopáusicas	Altura, peso, estilo de vida, consumo de estrógenos, pérdida dentaria	ES presentan un RR=0.76 de pérdida dentaria
Paganini-Hill 1995	Estudio longitudinal a 2 años 42.171 mujeres postmenopáusicas	IP; IG, PS, NIC, POI, pérdida dentaria	ES presentarán 36% menos de riesgo de pérdida dentaria que ES

Tabla 7. Estudios longitudinales sobre pérdida dentaria y osteopenia/osteoporosis

NIC, nivel de inserción clínico; POI, pérdida ósea interproximal; PS, profundidad de sondaje; IP, índice de placa; IG, índice gingival; ES, estrógeno suficiente; RR, riesgo relativo

La heterogeneidad de los estudios respecto al diseño, tamaño muestral, diferencias en la definición de enfermedad periodontal así como la consideración de diferentes formulaciones en la THS inducen a resultados contradictorios sobre el papel protector del estrógeno en el periodonto. Se requieren por tanto más estudios que avalen el papel protector del estrógeno en el periodonto respecto a la ganancia del nivel de inserción así como en la prevención de la pérdida dental. Tales motivos de investigación serán el objetivo de este estudio.

3.2.- UTILIDAD DEL FLUIDO GINGIVAL CREVICULAR COMO MEDIO DIAGNÓSTICO DE LOS MEDIADORES INFLAMATORIOS

El fluido gingival crevicular (FGC) presenta una serie de componentes que nos permiten por una lado identificar o diagnosticar la enfermedad periodontal y, al mismo tiempo, también nos permite anticipar el riesgo de padecer la enfermedad o determinar su progresión. Es necesario que ocurran dos sucesos, que o bien un sitio específico se transforme en una localización activa o, que una localización previamente afectada por la enfermedad desarrolle una mejoría clínica tras el tratamiento periodontal. Ello determina el metabolismo celular que se lleva a cabo en el periodonto determinado el estado de salud periodontal de una persona (Champagne et al., 2003).

El FGC se define como un trasudado de suero o exudado inflamatorio que puede ser recolectado de forma no invasiva del surco gingival presente en los dientes y, que nos permite estudiar la respuesta del huésped mediante el análisis de sus componentes.

La composición del FGC consta de restos del biofilm bacteriano adherido a la superficie dentaria, leucocitos, células de los tejidos periodontales y moléculas derivadas del suero. Los componentes derivados del huésped presentes en el FGC son enzimas liberadas por células del tejido conectivo inflamatorias, productos de degradación tisular o celular y, citoquinas inflamatorias, mediadores y otros productos secretados por las células inflamatorias (Offenbacher et al., 1993).

Existen diferencias en función de la afectación o no de las localizaciones, así localizaciones sanas presentan un transudado de suero que fluye en dirección al surco crevicular como consecuencia de un gradiente osmótico; por el contrario, localizaciones afectadas presentan un exudado inflamatorio que accede al surco crevicular debido al incremento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos del epitelio (Champagne et al., 2003).

Brill y Krasse, demostraron el potencial diagnóstico del FGC insertando un papel de filtro en el interior del surco gingival de perros a los que previamente se les había inyectado fluoresceína, demostrando al cabo de unos minutos la transferencia de líquidos por los tejidos, desde la circulación hacia el surco crevicular (Brill and Krasse, 1958).

Actualmente el método diagnóstico empleado para la toma de muestras del FGC es mediante la inserción tiras de papel en el surco para su posterior procesado en el Periotron®. En un primer momento se lleva a cabo la determinación del volumen del FGC obtenido en cada tira de papel para una posterior descripción de los diferentes componentes del mismo.

El volumen de FGC nos permite determinar el grado de inflamación tisular (definido por la permeabilidad vascular e infiltrado inflamatorio) y la permeabilidad y ulceración del epitelio de una localización determinada. Es característico, que localizaciones con mayor grado de inflamación presenten un mayor volumen de FGC respecto de aquellas que están sanas; por el contrario no se puede determinar que un mayor volumen de FGC este relacionado con un mayor grado de destrucción tisular (Griffiths, 2003, Lamster and Ahlo, 2007).

A pesar de ser descrito como un proceso no invasivo, la toma de muestras conlleva errores asociados como la contaminación por sangre, saliva o placa. Dichos errores deben evitarse eliminando aquellas muestras con signos visibles de sangre y volviendo a tomar una nueva o, retirando la placa y realizando aislamiento relativo de la zona puesto que se sabe que la presencia de placa o saliva en las muestras incrementa el volumen de FGC (Stoller et al., 1990, Griffiths et al., 1992, Griffiths, 2003).

El curso y desarrollo de la periodontitis implica la liberación de una serie de enzimas que pueden emplearse como marcadores potenciales que nos permitan monitorizar el grado de destrucción tisular. Las moléculas que provienen del infiltrado inflamatorio han sido propuestas como dichos marcadores pronóstico estableciendo una relación directa entre la concentración de las mismas con la activación de las células que componen este infiltrado; comprometiendo la participación del sistema inmune local. Por lo tanto, la destrucción tisular puede atribuirse a la activación inducida por linfocitos, monocitos, fibroblastos y demás células del huésped, que junto con la acción de los polisacáridos bacterianos inducen la liberación de citoquinas que a su vez liberan metaloproteinasas responsables de la destrucción tisular y de la reabsorción ósea (Birkedal-Hansen, 1993a, Birkedal-Hansen, 1993b). Así pues, el objeto de análisis de nuestro estudio son las citoquinas como marcadores pronóstico de la destrucción tisular.

3.2.1.- Interleuquina 1B

La **interleuquina 1B** (IL-1 β) es una potente citoquina pro-inflamatoria sintetizada por células B, macrófagos y células del epitelio escamoso, que se encuentra implicada en la inflamación periodontal, tanto aguda como crónica, así como en la reabsorción ósea. Ante niveles elevados de IL-1 β , los fibroblastos proliferan y estimulan la liberación de prostaglandina E2 (PGE2) estimulando la reabsorción ósea (Silva et al., 2008, Vernal et al., 2009). La síntesis de IL-1 β viene determinada por la presencia de lipooligosacáridos producidos por los periodontopatógenos. IL-1 β estimula la producción de interleuquina 6 (IL-6) y PGE2, mientras que PGE2 ejerce un efecto supresor sobre esta citoquina (Saito et al., 1990).

Se considera que la IL-1 β es el principal mediador de la destrucción tisular que acontece en la enfermedad periodontal. Stashenko y cols. evaluaron las concentraciones de IL-1 β en el FGC en pacientes con enfermedad periodontal determinando que todos los pacientes presentaban concentraciones entre 0-82ng/mL, incrementándose dicha concentración en localizaciones con enfermedad periodontal activa. Los autores determinan que concentraciones mayores de 25ng/mL inducen a manifestaciones clínicas de inflamación por lo que proponen a esta citoquina como uno de los principales mediadores de la destrucción tisular (Stashenko et al., 1991).

El estudio realizado por Salvi y cols. determina las diferencias en la concentración de IL-1 β en función de los estadios de salud periodontal. Así, la media en sujetos sanos fue de 16.8ng/mL; en sujetos con gingivitis de 115.8ng/mL; en casos de periodontitis del adulto de 263.2ng/mL y en casos de periodontitis juvenil de 836.8ng/mL (Salvi et al., 1997).

Tras realizarse el tratamiento periodontal no quirúrgico la concentración de IL-1 β en el FGC tiende a decrecer una media de -0.85ng/mL (Stadler et al., 2016). Otros autores no encontraron diferencias en la concentración de IL-1 β entre los diferentes estadios de salud periodontal.

Diferentes estudios in vitro han determinado que la presencia de hormonas sexuales tales como progesterona y estradiol, ejercen un efecto supresor sobre la síntesis de IL-1 β tras la adición de lipopolisacáridos de origen bacteriano (Morishita et al., 1999a). Morishita y cols. determinaron que los niveles de estradiol podían modificar la capacidad regeneradora del ligamento periodontal, así como los niveles de IL-1 β de manera dosis dependiente, por lo que sugieren que la depleción en los niveles de estrógenos que se produce en la menopausia modifica la progresión de la enfermedad periodontal por medio de la producción de citoquinas pro-inflamatorias (Morishita et al., 1999a, Morishita et al., 1999b). Estos hallazgos se corroboran con los obtenidos por Cohen-Solal y cols y, Pacifici los cuales determinaron que mujeres en postmenopausia presentaban un incremento de monocitos así como de IL-1 β , IL-6 y, TNF- α (Cohen-Solal et al., 1993, Pacifici, 1996).

Estudios clínicos demuestran como la concentración de IL-1 β del FGC se encuentran elevados en mujeres con menopausia y, como el nivel de estrógenos en sangre determina la fluctuación de dicha citoquina; así, mujeres estrógeno deficientes presentan mayores concentraciones de IL-1 β en comparación con mujeres estrógeno suficientes (Payne et al., 1993).

Los estudios llevados a cabo por Reinhardt y cols. son los primeros en establecer una relación causal entre la depleción de estrógenos en la menopausia y, el aumento en la producción de mediadores de la inflamación y pérdida de inserción clínica en la enfermedad periodontal. Reinhardt y cols. estudiaron a 26 mujeres postmenopáusicas, con historia previa de periodontitis y, establecidas en dos grupos en función de sus niveles de estrógenos (estrógeno suficientes y, estrógeno deficientes) y determinaron que las concentraciones de IL-1 β era mayores en el grupo estrógeno deficiente (93.0 ± 22.8 pg/mL) que en aquellas mujeres estrógeno suficientes (21.9 ± 13.0 pg/mL) alcanzando diferencias estadísticamente significativas (Reinhardt et al., 1994).

El mismo grupo de investigación estudió la relación entre concentraciones elevadas de IL-1 β con la progresión de la enfermedad periodontal estableciendo que las mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes presentan mayores concentraciones de IL-1 β (31.7 ± 10.2 pg/mL) lo que induce a una pérdida 3 veces mayor de inserción interproximal ≥ 0.4 mm que aquellas estrógeno suficientes (9.1 ± 2.1 pg/mL) (Payne et al., 1997, Reinhardt et al., 1998).

Recientemente, este mismo grupo de investigación evaluó a 128 mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes en terapia periodontal de mantenimiento cada tres meses durante dos años y, determinaron que únicamente el 2% - 3% de las mismas desarrollaron pérdida de inserción y sólo el 5% - 10% pérdida ósea. Estos resultados se contradicen con los datos obtenidos previamente a lo que los autores determinan que se puede deber por el mantenimiento periodontal estricto a que están sometidas las pacientes así como al consumo de suplementos de calcio y vitamina D (Reinhardt et al., 2010).

Por el contrario, determinaron que concentraciones elevadas de IL-1 β al año de haberse realizado el tratamiento periodontal no quirúrgico, respecto a la visita basal, se asociaba con un odds ratio de 1,67 para desarrollar futura pérdida de inserción (Reinhardt et al., 2010).

Autor/Año	Material/Método	Muestras FGC	Resultados
Reinhardt 1994	Estudio Transversal 26 mujeres menopáusicas periodontalmente sanas 2 grupos: 1- 13 mujeres premenopáusicas o postmenopáusicas con THS (ES) 2- 13 mujeres postmenopáusicas sin THS (ED)	Eligen 1-3 localizaciones por sujeto con PS 5-6mm, SS, PIC 5-7mm	Concentración media IL-1 β ES 21.9 \pm 13.0 pg/mL Concentración media IL-1 β ED 93.0 \pm 22.8 pg/mg
	Estudio Transversal 26 mujeres menopáusicas periodontalmente sanas 2 grupos: 1- 13 mujeres premenopáusicas o postmenopáusicas con THS (ES) 2- 13 mujeres postmenopáusicas sin THS (ED)	Eligen 1-3 localizaciones por sujeto con PS 5-6mm, SS, PIC 5-7mm	Concentración media IL-1 β ES 21.9 \pm 13.0 pg/mL Concentración media IL-1 β ED 93.0 \pm 22.8 pg/mg

Tabla 8. Estudios transversal sobre la concentración de estradiol en sangre y la concentración de IL-1 β en FGC

ES, estrógeno suficiente; ED, estrógeno deficiente; THS, terapia hormonal sustitutiva; PS, profundidad de sondaje; SS, sangrado al sondaje; PIC, pérdida de inserción clínica; IL-1 β , interleuquina 1 β ; FGC, fluido gingival crevicular

Autor/Año	Material/Método	Muestras FGC	Resultados
Reinhardt 2010	Estudio Longitudinal a 2 años 128 mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes	Eligen 1-3 localizaciones por sujeto con PS 5-6mm, SS, PIC 5-7mm	Incrementos en la concentración de IL-1 β respecto a la visita basal establecen un OR=1.67 de pérdida de inserción futura
Reinhardt 1998	Estudio Longitudinal a 2 años 90 mujeres menopáusicas 3 grupos: 1- 35 mujeres POSTM con EP y ES > 40pg/mL 2- 35 mujeres POSTM con EP y ED < 30pg/mL 3- 20 mujeres POSTM periodontalmente sanas	Eligen 4 localizaciones por sujeto: 2 localizaciones con PS \geq 5mm, PIC \geq 6mm 2 localizaciones con PS \leq 4mm, PIC \leq 2mm	Concentración media IL-1 β ES fue 9.1 \pm 2.1 pg/mL Concentración media IL-1 β ED fue 31.7 \pm 10.2 pg/mg

Tabla 9. Estudios longitudinales sobre la concentración de estradiol en sangre y la concentración de IL-1 β en FGC

POSTM, postmenopáusicas; EP, enfermedad periodontal; ES, estrógeno suficiente; ED, estrógeno deficiente; PS, profundidad de sondaje; SS, sangrado al sondaje; PIC, pérdida de inserción clínica; IL-1 β , interleuquina 1 β ; OR= Odd ratio; FGC, fluido gingival crevicular

3.2.2.- Interleuquina 6

La **interleuquina 6** (IL-6) es una citoquina pleiotrópica pro-inflamatoria sintetizada por macrófagos, células T, fibroblastos, hepatocitos, células endoteliales y neuronas, que al igual que la anterior, se vincula a la reacción inflamatoria de la periodontitis e interviene en la reabsorción ósea (Bartold and Haynes, 1991, Malberg et al., 1992).

Elevadas concentraciones de IL-6 se han demostrado en localizaciones con gingivitis cuando se comparan con localizaciones sanas. Geivelis y cols. determinan concentraciones elevadas de IL-6 en localizaciones activas ($334,91 \pm 43,21$ pg/mL) respecto de aquellas inactivas ($230,36 \pm 34,77$ pg/mL) (Lee et al., 1995). Se ha observado una correlación positiva entre el sangrado gingival y la concentración de IL-6, así como entre profundidad de sondaje e IL-6 (Geivelis et al., 1993). Por el contrario, el estudio de Bozkurt y cols. no encuentra diferencias entre periodontitis y las concentraciones de IL-6 (Bozkurt et al., 2000).

La IL-6 se considera como un indicador de pérdida de inserción clínica en el comienzo y progreso de la enfermedad periodontal. Tras realizarse el tratamiento periodontal no quirúrgico la concentración de IL-6 en el FGC tiende a decrecer una media de -0.12 ng/mL (Stadler et al., 2016).

La vinculación existente entre las hormonas sexuales e IL-6 ha generado controversia. Por un lado, estudios in vitro han mostrado como la estimulación mediante hormonas sexuales induce a una reducción en la producción de IL-6, lo que justifica la hipótesis de reducción de la resistencia del periodonto frente a la agresión bacteriana e incrementando así, la inflamación gingival (Carrillo-de-Albornoz et al., 2010). Otros estudios han observado que, por el contrario, la producción de IL-6 se incrementa tras la estimulación con estradiol o progesterona (Lapp et al., 1995).

Los estudios clásicos de Reinhardt y cols. determinan que la concentración de IL-6 del FGC es mayor en mujeres estrógeno deficientes (15.8 ± 9.1 pg/mg) respecto a mujeres estrógenos suficientes (3.4 ± 3.5 pg/mL), correlacionados las concentraciones de IL-6 con las concentraciones de IL-1 β y el grado de destrucción tisular en la enfermedad periodontal (Reinhardt et al., 1994). Estudios más recientes determinan como los niveles de estrógeno en sangre no se correlacionan con incrementos en las concentraciones de IL-6 del FGC mientras que concentraciones elevadas de IL-6 si se correlacionan con el comienzo y progreso de la enfermedad periodontal (Streckfus et al., 1997)(Ha LY et al., 2004).

Reinhardt y cols. demostraron la presencia de concentraciones elevadas de IL-6 en el FGC en pacientes menopáusicas con periodontitis refractaria en comparación con sujetos sanos (Reinhardt et al., 1994).

Autor/Año	Material/Método	Muestras FGC	Resultados
Ha 2004	Estudio Transversal 79 mujeres postmenopáusicas en 3 grupos: 1- 34 ED con PC moderada generalizada 2- 15 ES con PC moderada generalizada 3- 30 periodontalmente sanas	Localización mesio vestibular de premolares maxilares y mandibulares	Concentración media IL-6 en sanos 1088.10 ± 102.33 pg/mL Concentración media IL-6 en perio 2961.22 ± 224.80 pg/mL Niveles de estradiol no asociados con incrementos de IL-6
Streckfus 1997	Estudio Transversal 28 mujeres menopáusicas periodontalmente sanas 2 grupos: 1- 17 mujeres premenopáusicas 2- 11 mujeres postmenopáusicas con THS (ES)	Localización mesio vestibular de premolares maxilares y mandibulares	Concentración media IL-6 premenopausia 22.1 ± 6.52 pg/mg Concentración media IL-6 postmenopausia 18.6 ± 5.92 pg/mg
Reinhardt 1994	Estudio Transversal 26 mujeres menopáusicas periodontalmente sanas 2 grupos: 1- 13 mujeres premenopáusicas o postmenopáusicas con THS (ES) 2- 13 mujeres postmenopáusicas sin THS (ED)	Eligen 1-3 localizaciones por sujeto con PS 5-6mm, SS, PIC 5-7mm	Concentración media IL-6 ES 3.4 ± 3.5 pg/mL Concentración media IL-6 ED 15.8 ± 9.1 pg/mg

Tabla 10. Estudios transversal sobre la concentración de estradiol en sangre y la concentración de IL-6 en FGC

PC, periodontitis crónica; ES, estrógeno suficiente; ED, estrógeno deficiente; THS, terapia hormonal sustitutiva; PS, profundidad de sondaje; SS, sangrado al sondaje; PIC, pérdida de inserción clínica; IL-6, interleuquina 6; FGC, fluido gingival crevicular

3.2.3.- Interleuquina 17

La **interleuquina 17** (IL-17) es otra citoquina pleiotrópica inducida por células T, fibroblastos, células endoteliales y otras células epiteliales. La IL-17 tiene como función principal la estimulación de otras citoquinas y marcadores de superficie celular involucrados en enfermedades inflamatorias como la periodontitis. IL-17 estimula la producción de diferentes citoquinas tales como TNF- α e IL-1 β a partir de macrófagos ; IL-6 de los fibroblastos (Jovanovic et al., 1998) y PGE2 (Fossiez et al., 1996). IL-17 comparte propiedad con IL-1 β y TNF- α lo que induce a la reabsorción ósea mediada por osteoclastos (Kotake et al., 1999). La IL-17 induce la estimulación de osteoblastos que provocan la reabsorción ósea.

Estudios longitudinales describen el papel que desempeña la IL-17 en diferentes enfermedades inflamatorias. Los estudios han demostrado su involucración en el inicio y progreso de la enfermedad periodontal pudiendo explicar hallazgos controvertidos hasta el momento difíciles de explicar con el paradigma Th1/Th2.

Lester y cols. determinaron concentraciones elevadas de IL-17 en localizaciones con pérdida de inserción respecto de aquellas localizaciones en salud periodontal (Lester et al., 2007). Los estudios de Ohyama y cols. también determinan concentraciones elevadas de IL-17 en localizaciones con pérdida de inserción así como también en localizaciones próximas al proceso de reabsorción ósea, estableciendo que la IL-17 desempeña un papel importante en el mismo (Ohyama et al., 2009).

En la enfermedad periodontal se determina que la concentración de IL-17 está elevada de manera estadísticamente significativa en localizaciones enfermas ($45.9 \pm 17.4\text{pg/mL}$) que en sanas ($35.6 \pm 2.4\text{pg/mL}$) (Vernal et al., 2005). Tras el tratamiento periodontal no quirúrgico las concentraciones de IL-17 tienden a decrecer (Zhao et al., 2011). Tras realizarse el tratamiento periodontal no quirúrgico la concentración de IL-17 en el FGC tiende a decrecer una media de -0.81ng/mL (Stadler et al., 2016).

Considerando las concentraciones de IL-17 en el FGC en los pacientes con periodontitis es lícito especular que esta citoquina está involucrada en el desarrollo de la respuesta inflamatoria gingival mediando la respuesta inmune.

No existen estudios en la actualidad que evalúen el papel de esta citoquina en función de los niveles de estradiol en plasma, por lo que será objeto de estudio de este trabajo.

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

JUSTIFICACIÓN

En base a la revisión literaria descrita, podemos afirmar que los estrógenos son capaces de modular la respuesta vascular y el recambio del tejido conectivo del periodonto, asociado con una interacción de los mediadores de la inflamación y cambios en la microflora oral que inducen a manifestaciones clínicas del estado periodontal (Amar and Chung, 1994, Mariotti, 1994, Armitage, 1999b, Leimola-Virtanen et al., 2000, Krejci and Bissada, 2002, Mascarenhas et al., 2003, Guncu et al., 2005, Shiau and Reynolds, 2010b, Markou et al., 2011).

La depleción estrogénica que acontece en la menopausia podría ser un factor de riesgo de periodontitis. La acción conjunta con los factores de reabsorción ósea estimulados por los periodontopatógenos, inducen a la síntesis de una serie de citoquinas proinflamatorias tales como interleuquina 1 β y factor de necrosis tumoral alfa. Estas citoquinas proinflamatorias, junto con la actividad de reabsorción ósea, inducen a la síntesis de interleuquina 6, de factor estimulador de colonias de granulocitos/macrófago y, de factor estimulador de colonias de macrófago, los cuales regulan la proliferación de precursores de osteoclastos así como la activación de estos últimos. Esta cascada provoca un aumento de la inflamación y, de la reabsorción ósea (Genco and Grossi, 1998).

Los estudios sugieren que la reducción de los niveles de hormonas sexuales femeninas (estradiol) alteran la producción de IL-1 β , IL-6 e IL-17 de forma sistémica y local, y postulan que estos cambios pueden ser los responsables de una mayor pérdida de inserción asociada a la menopausia (Reinhardt et al., 1994, Reinhardt et al., 1998, Reinhardt et al., 2010).

La heterogeneidad de los estudios respecto al diseño, tamaño muestral, diferencias en la definición de periodontitis así como la consideración de diferentes formulaciones en la terapia hormonal sustitutiva inducen a resultados contradictorios sobre el papel protector del estrógeno en el periodonto. Se requieren por tanto más estudios que avalen el papel protector del estrógeno en el periodonto respecto a la ganancia del nivel de inserción así como en la prevención de la pérdida dental.

En la actualidad no existen estudios que evalúen el efecto de la terapia hormonal sustitutiva en mujeres postmenopáusicas con periodontitis crónica tras el tratamiento periodontal no quirúrgico respecto de aquellas que no emplean dicha terapia.

HIPÓTESIS

La hipótesis de trabajo de nuestro estudio considera que el empleo de terapia hormonal sustitutiva en mujeres postmenopáusicas diagnosticadas de periodontitis crónica puede proporcionar beneficios adicionales clínicos e inmunológicos en el tratamiento no quirúrgico de la periodontitis.

Por lo tanto, aquellas mujeres postmenopáusicas que empleen terapia hormonal sustitutiva, determinada por una concentración de estradiol en sangre superior o igual a 30pg/mL, presentarán una mejor respuesta tras el tratamiento periodontal no quirúrgico determinado por una mayor reducción en la profundidad de sondaje así como una mayor ganancia en el nivel de inserción clínico, respecto de aquellas mujeres que no empleen dicha terapia.

El beneficio en las variables clínicas se verá correlacionado con una disminución en los marcadores pronósticos de la destrucción tisular (citoquinas proinflamatorias).

Así pues, el papel protector del estrógeno en el periodonto vendrá determinado por la concentración de estradiol en sangre, presentando mejor respuesta al tratamiento periodontal no quirúrgico cuanto mayor sea su concentración.

Por el contrario, aquellas mujeres postmenopáusicas que no empleen ninguna tratamiento hormonal, cuyas concentraciones de estradiol en sangre sean inferiores a 30 pg/mL, no presentarán mejor respuesta clínica ni inmunológico tras el tratamiento periodontal no quirúrgico.

OBJETIVOS

General:

Evaluar la respuesta al tratamiento periodontal no quirúrgico en mujeres postmenopáusicas con periodontitis crónica bajo terapia hormonal sustitutiva en cuanto a variables clínicas, basadas en el paciente, respecto de aquellas sin dicha terapia hormonal sustitutiva.

Específicos:

1. Determinar las diferencias en las variables clínicas en presencia y ausencia de terapia hormonal sustitutiva así como en función de diferentes rangos de concentración de estradiol en sangre.
2. Determinar las diferencias en los niveles de IL-1 β , IL-6 e IL-17 en el fluido gingival crevicular en presencia y ausencia de terapia hormonal sustitutiva así como en función de diferentes rangos de concentración de estradiol en sangre.
3. Establecer si existe relación entre los niveles de L-1 β , IL-6 e IL-17 y las variables clínicas en presencia y ausencia de terapia hormonal sustitutiva.
4. Determinar el papel protector o de riesgo que ejerce la concentración de estradiol en sangre respecto al nivel de inserción clínico.

MATERIAL Y MÉTODO

1.- PACIENTES

El protocolo del presente estudio fue aprobado por los Comités Éticos de Investigación Clínica del Hospital Clínico San Carlos de Madrid y del Hospital Universitario la Princesa de Madrid (Anexo I).

1.1.- POBLACIÓN DE ESTUDIO

La **población de referencia** se conformó en base a un reclutamiento consecutivo de mujeres postmenopáusicas en el Instituto Palacios de Salud y Medicina de la Mujer de Madrid (España). En este sentido, a todas las mujeres que acudían al Instituto Palacios, se les ofreció participar en el estudio y se les realizó un breve screening para determinar si cumplían los criterios de inclusión tanto a nivel ginecológico como de parámetros clínicos periodontales.

Criterios de Inclusión:

1. Mujeres con edades comprendidas entre los 48 y 64 años.
2. Mujeres con amenorrea establecida de más de 12 meses o amenorrea establecida al menos 6 meses cuyos niveles de hormona folículo estimulante sean inferiores a 40 pg/ml.
3. Mujeres con menopausia fisiológica.
4. Presencia de al menos 16 dientes, contabilizando al menos el primer o segundo molar superior.
5. Diagnóstico establecido de periodontitis crónica moderada generalizada (pérdida de inserción al sondaje mayor o igual a 4 mm en al menos un 30% de las piezas dentales; pérdida ósea marginal superior al 30% en al menos el 50% de los dientes)

Criterios de Exclusión:

1. Presencia de enfermedades sistémicas o consumo de medicación antiinflamatoria crónica que pudiese alterar los niveles inmunológico y periodontales.
2. Antibioterapia sistémica en los 6 meses previos al inicio del estudio.
3. Tratamiento periodontal no quirúrgico en los 6 meses o quirúrgico en los 12 meses anteriores al inicio del estudio.
4. Medicación con bifosfonatos en alguna momento de su vida o suplementos de calcio.

Una vez determinadas las pacientes cumplían con los criterios de inclusión del estudio (**población elegible**), se les proporcionó información sobre el estudio, de sus beneficios y riesgos, así como del carácter voluntario del mismo. Para ello se les entregó un consentimiento informado que firmaron antes del estudio.

La **población de estudio** fue dividida en dos cohortes en base a su concentración de estradiol en suero. Así pues, en base al factor exposición diferenciamos entre:

La cohorte expuesta estuvo conformada por aquellas mujeres postmenopáusicas cuya concentración de estradiol en sangre fue superior o igual a 30 pg/ml al haber recibido terapia hormonal sustitutiva (de ahora en adelante nos referiremos a esta cohorte como estrógeno suficiente).

La cohorte no expuesta la conformaron aquellas mujeres postmenopáusicas cuya concentración de estradiol en sangre fue inferior a 30 pg/ml al no haber recibido dicha terapia (de ahora en adelante nos referiremos a esta cohorte como estrógeno deficiente).

La población de estudio fue sometida a tratamiento periodontal y, posteriores visitas de seguimiento, en la clínica del postgrado del master de Periodoncia de la Facultad de Odontología (Departamento de Estomatología III) de la Universidad Complutense de Madrid (UCM) (España).

1.2.- SELECCIÓN DE LOS PACIENTES

Se realizó en primera instancia una revisión de las historias clínicas de las pacientes potenciales, de listados de estudios clínicos aportados por el *Instituto Palacios de Salud y Medicina de la Mujer* de Madrid (España). A continuación, se realizó un estudio mas exhaustivo de aquellas pacientes que cumplían criterios de inclusión de carácter ginecológico. Se concertó una cita en el Instituto Palacios en la cual se confirmó que cumplían con los parámetros ginecológicos al mismo tiempo que se les realizó una exploración intraoral para establecer su diagnóstico periodontal en base a parámetros clínicos como la profundidad de sondaje y el nivel de inserción clínico en seis localizaciones por diente en todos los dientes salvo los terceros molares.

Tras haber establecido el diagnóstico periodontal de cada paciente, todas aquellas mujeres que cumplían los criterios de inclusión establecidos fueron invitadas a participar en el estudio en la clínica de postgrado de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la UCM.

2.- MÉTODO

2.1.- TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio de cohortes prospectivo controlado de 3 meses de duración.

2.2.- CONSENTIMIENTO INFORMADO

Los pacientes recibieron por parte del investigador la información sobre el objetivo y las características del estudio de forma clara y detallada para poder participar del mismo de forma voluntaria. Para ello se les entregó un consentimiento informado (Anexo II) que leyeron, comprendieron y firmaron antes del estudio. Dicho consentimiento, al igual que el estudio, fue previamente aprobado por los Comités Éticos de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Clínico San Carlos y el Hospital Universitario la Princesa de Madrid.

2.3.- DISEÑO DEL ESTUDIO

2.3.1.- Calibración previa del examinador

El estudio fue realizado por dos examinadores calibrados, entrenados y ciegos a la asignación de los grupos (SA y RD). La calibración de los índices y variables se llevo a cabo diferenciando variables categóricas (índice de placa e índice gingival) y variables cuantitativas (profundidad de sondaje y recesión del margen gingival).

Con el fin de homogeneizar criterios diagnósticos, se realizó un entrenamiento consistente en la observación de fotografías, junto a un experto (MG), para las variables categóricas (índice de placa e índice gingival) en la clínica de postgrado de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la UCM. Tras la observación y diagnóstico se llegó a la conclusión que valores de grado 3 para ambos índices se reservarían para casos extremos. Se llevó a cabo una calibración previa al estudio intraexaminador e interexaminador para obtener datos de concordancia mediante un ejercicio de calibración empleando hojas de registro con 10 pacientes ajenos al estudio en las mismas circunstancias en las que se desarrolló el estudio.

El índice kappa entre examinadores para el índice de placa y el índice gingival fue de 0,91 y 0,93 respectivamente, mientras que el coeficiente de correlación intraexaminador fue de 0,90 y 0,94 respectivamente.

Del mismo modo se desarrolló una calibración previa al estudio para las variables cuantitativas (profundidad de sondaje y recesión del margen gingival) en base a 10 pacientes con periodontitis crónica. A dichos pacientes se les realizó mediciones a boca completa para los parámetros clínicos de profundidad de sondaje y recesión del margen gingival de manera duplicada dejando 2 semanas de intervalo entre mediciones.

De acuerdo con estos resultados se calculó la concordancia interexaminador, estableciéndose inicialmente que la concordancia debía de ser al menos del 98% en las mediciones con un valor de tolerancia de ± 2 mm. (Araujo et al., 2003). El índice kappa interexaminador para las variables de profundidad de sondaje y recesión gingival fue de 0,87 y 0,89 respectivamente, mientras que el coeficiente de correlación intraexaminador fue de 0,88 y 0,91 respectivamente.

2.3.2.- Secuencia del estudio

1. Visita de selección:

En un primer momento el investigador recibe al paciente, explica el objetivo del estudio, realiza el cuestionario de inclusión así como un screening periodontal siguiendo los parámetros del formulario de informe de casos (CRF) para el establecimiento de afectación periodontal. Se comprobó que el paciente cumplía con todos los criterios de inclusión y exclusión del estudio, se informó sobre las particularidades del mismo y se le entregó un consentimiento informado.

Una vez aceptado y firmado, se completó un cuestionario general que evalúa variables demográficas y socioeconómicas. Además, se rellenó una historia médica y oral. Se realizó una entrevista a la paciente con el objetivo de obtener información respecto a la edad, estado menopáusico y tipo de tratamiento hormonal sustitutivo al que se encuentran sometidas. También se registraron datos respecto de la salud general de la paciente, la medicación actual y el hábito de fumar.

Dentro de las variables demográficas y socioeconómicas se consideraron:

- Estado civil (soltera, casada, viuda, separada, pareja, otro).
- Nivel de estudios (primaria, secundaria, formación profesional, licenciatura/diplomatura).
- Profesión (cuenta ajena, propia, estudiante, ama de casa, jubilado, parado, otra).

Dentro de la historia médica y oral se consideraron:

- Edad.
- Edad aparición menopausia.
- Tipo de menopausia (fisiológica, prematura, quirúrgica)
- Tipo de tratamiento hormonal sustitutivo.
- Enfermedades sistémicas.
- Consumo de medicamentos.
- Alergias.
- Consumo tabaco (fumadoras, no fumadoras, ex-fumadoras)

Para determinar el consumo de tabaco, las pacientes fueron categorizadas como fumadoras (los que fuman al menos 1 cigarrillo al día), no fumadores (aquellos pacientes que no hayan fumado nunca) y ex-fumadores (aquellos pacientes que hayan dejado de fumar hace más de un año). Entre las pacientes fumadoras se determinó la duración del hábito en años de consumo así como el cálculo del número de paquetes de tabaco por año, para ello se multiplicó el número de cigarrillos que fuma al día por el número de años que lleva fumando y, dividido entre 20.

A continuación, el personal cualificado del Instituto Palacios, mediante un análisis de sangre para la determinación de los niveles hormonales en suero, concretamente de estradiol, progesterona, hormona folículo estimulante y hormona luteinizante, confirmó los criterios ginecológicos.

Tras la realización del cuestionario inicial se les realizó a una exploración intraoral para establecer su diagnóstico periodontal que incluía la evaluación de la profundidad de sondaje, el nivel de inserción clínico y el sangrado al sondaje en seis localizaciones por diente en todos los dientes salvo los terceros molares.

Se les explicó su enfermedad, junto con los riesgos y beneficios del tratamiento y, se les instó a firmar el consentimiento informado para poder participar en el estudio.

2. *Visita basal:*

En la clínica de postgrado de Periodoncia de la Facultad de Odontología (UCM) se le realizó un estudio periodontal completo mediante el registro de los parámetros clínicos y muestras de placa subgingival para estudio microbiológico; al mismo tiempo se tomaron las muestras de fluido gingival crevicular para la determinación de la concentración de interleuquina 1 β , interleuquina 6 e interleuquina 17.

Una vez registrados todas las variables del estudio se llevó a cabo el tratamiento periodontal básico no quirúrgico mediante profilaxis, raspado y alisado radicular, eliminación de los factores retentivos y ajuste oclusal; completándose en dos visitas de 45 minutos aproximadamente, en una misma semana. El raspado y alisado radicular se llevará a cabo con instrumental ultrasónico (Minipiezon Electromedical Systems EMS®, Nyon, Switzerland) y con curetas Gracey, bajo anestesia local, siendo realizado por dos clínicos cualificados.

Las pacientes recibieron 10 minutos de instrucciones en higiene oral y se les entregó un cepillo dental (Oral-B Pro-Expert Pro-Flex®, Procter & Gamble, Madrid, España) así como un dentífrico (Vitis Encias®, Dentaïd, Sant Cugat del Vallés, España) y un colutorio (PerioAid Tratamiento®, Dentaïd, Sant Cugat del Vallés, España).

3. *Visita de re-evaluación:*

Esta fase incluye las visitas al mes y a los 3 meses de concluir el tratamiento periodontal básico no quirúrgico. En cada una de las visitas se registrarán las variables periodontales. En la última visita se tomarán además muestras microbiológicas y una muestra de fluido gingival crevicular en cada paciente.

2.4.- VARIABLES RESPUESTA

La toma de datos clínicos se realizó después de la toma de muestras para evitar el potencial de contaminación por sangre y saliva de las muestras de FCG. En ella se incluyó el registro del índice de placa (IP)(Silness and Löe, 1964) y el índice gingival (IG) (Löe, 1967) en todos los dientes (excepto los terceros molares), en seis localizaciones por diente, con una sonda periodontal North-Carolina (Hu-Friedy, Leimen, Alemania). Así como del estado periodontal mediante la obtención de la profundidad de sondaje, recesión gingival y, nivel de inserción clínico

2.4.1.- Índice de placa (Silness and Löe, 1964)

Mide el grosor de la placa supragingival a través de una escala que va de 0 a 3, sin necesidad de tinción:

- 0. Ausencia de placa.
- 1. Placa no visible, pero que puede extraerse del tercio cervical del diente con ayuda de una sonda
- 2. Acumulación moderada de placa en el área gingival que es apreciable a simple vista.
- 3. Placa abundante en la zona, cubriendo incluso al diente adyacente.

El índice se calcula sumando todas las puntuaciones y dividiendo entre el número de superficies analizadas.

2.4.2.- Índice gingival (Loe, 1967)

Mide la salud de las encías en las mismas superficies y dientes y en la misma escala que el índice de placa. Los valores son:

- 0. Encía sana.
- 1. Ligera inflamación, discreto edema y cambio en el color.
No hemorragia al sondaje.
- 2. Inflamación moderada, enrojecimiento, edema. Hemorragia al sondaje.
- 3. Inflamación severa, marcado enrojecimiento, edema y ulceración.
- 4. Hemorragia espontánea.

El índice se obtiene sumando todas las puntuaciones y dividiendo entre el número de superficies observadas. Los datos obtenidos permiten clasificar a los pacientes en función de su grado de gingivitis:

- a. Gingivitis leve: 0,1-1.
- b. Gingivitis moderada: 1,1-2.
- c. Gingivitis severa: >2.

2.4.3.- Profundidad de sondaje

Mide la distancia desde el margen gingival hasta la punta de la sonda periodontal que suele coincidir con el fondo de la bolsa periodontal.

2.4.4.- Recesión gingival

Mide la distancia desde la unión amelo-cementaria hasta el margen gingival libre.

2.4.5.- Nivel de inserción clínica

Se obtuvo mediante la suma de la profundidad de sondaje y la recesión gingival. El nivel de inserción clínica perdido permite determinar el grado de afectación de la enfermedad periodontal.

2.5.- RECOGIDA Y ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE FLUIDO GINGIVAL CREVICULAR

2.5.1.- Toma de muestras de FGC

Las muestras de fluido crevicular gingival (FCG) se tomaron del surco gingival de dos localizaciones con afectación periodontal definidas como aquellas que presentasen una profundidad de sondaje ≥ 5 mm junto con sangrado y con pérdida de inserción clínica ≥ 6 mm mediante tiras de papel absorbente (Periopaper® Harco, Irvine, CA) (Norderyd et al., 1993, Reinhardt et al., 1994).

Para tomar las muestras se realizó un aislamiento relativo de la zona mediante rollos de algodón y se eliminó la placa supragingival presente mediante una cureta, teniendo especial cuidado en no tocar el margen gingival. La zona se secó mediante un suave chorro de aire continuo durante 5-10 segundos incidiendo de forma paralela al eje apico-coronal (D'Aoust and Landry, 1994). A continuación, se introdujo la tira de papel en el fondo del surco hasta sentir una suave resistencia y se mantuvo en posición durante 30 segundos (Rawlinson et al., 2000) (Silva et al., 2008) (Yucel et al., 2008). Las tiras de papel contaminadas con sangre y saliva se desecharon y se tomó una nueva muestra de FCG (Engebretson et al., 2002). Si esta nueva muestra resultaba de nuevo contaminada, se desechaba y se consideraba ese dato como ausente.

2.5.2.- Cálculo del volumen de FGC

A continuación se cuantificó el volumen de FGC obtenido mediante el Periotron 8000® en unidades periotron (Harco, Irvine, CA); para ello se extrapoló la lectura digital dada por el mismo con una curva de calibrado con suero fisiológico del aparato realizada previamente (Chapple et al., 1999). Los sensores del aparato se limpiaban con etanol entre cada lectura. Inmediatamente después se guardó cada tira en un tubo Eppendorf Micro-Spin con filtro estéril (Lida Manufacturing Corp, N, EEUU) a -80°C hasta su posterior análisis (Reinhardt et al., 1994).

2.5.3.- Calibrado del Periotron 8000

Se construyó una gráfica de calibrado para el Periotron 8000® de tal modo que permitiera transformar las unidades digitales en unidades de volumen (μl). En tiras de papel (Periopaper®) y con la ayuda de una jeringa Hamilton, se depositaron volúmenes conocidos de suero fisiológico (0,1 a 1,2mL), con incrementos de 0,1 μl . Por cada volumen se realizaron tres medidas. Con los datos obtenidos se realiza un estudio de regresión siguiendo una ecuación polinómica de cuarto orden (Chapple et al., 1999).

μl	Valor medio
0,1	22
0,2	40
0,3	55
0,4	73
0,5	92
0,6	106
0,7	120
0,8	131
0,9	140
1,0	147

Figura 5. Calibración del Periotron 8000®

2.5.4.- Análisis de las muestras de FGC

Las muestras fueron descongeladas y centrifugadas a temperatura ambiente a 3000 rpm durante 5 minutos. Las concentraciones de IL-1 β , IL-6 e IL-17 fueron cuantificadas empleando la técnica de determinación inmunoenzimática ELISA (enzyme-linked-immuno-sorbent assay), mediante un test comercial específico para cada citoquina, siguiendo las indicaciones del fabricante (BLK Diagnostic International, Badalona, Barcelona, España) (Reinhardt et al., 1994, Norderyd et al., 1993).

Para proceder a la extracción del FGC de las tiras de Periopaper, se introdujeron en alícuotas de solución tampón (solución buffer fosfato 50 mM, pH 7.2, con inhibidores de proteasas y, 0.1 mM fluoruro de fenilmetilsulfonil) (Uematsu et al. 1996). Cada tira de Periopaper se introdujo en 200 μl de solución tampón en tubos Eppendorf MicroSpin estériles y se dejaron reposar durante dos horas a temperatura ambiente para inducir al pase del FGC a la fase acuosa. A continuación, los tubos Eppendorf se centrifugaron a 1000g durante cinco minutos. El sobrenadante fue recogido y se empleó para la determinación de las concentraciones de los mediadores del FGC.

El análisis inmunológico se realizó mediante el test de ELISA específico para cada citoquina. En cada ensayo las muestras se procesaron por duplicado para desechar errores asociados a la metodología. La cantidad de citoquina en las muestras fue determinada en picogramos con curvas estándar o curvas de patrón confeccionadas a partir de la proteína recombinante del test ELISA. La concentración de citoquinas (pg/ml) fue calculada a partir del volumen del FGC.

Se realizaron curvas de regresión lineal para evaluar la correlación entre los valores obtenidos y las curvas patrón del Periotron®8000 así como de los distintos kits de ELISA. Los coeficientes de correlación resultantes fueron mayores o iguales 0,95.

Mediante esta técnica diagnóstica, la detección de los mediadores de la inflamación objeto de estudio (IL1- β , IL-6, IL-17) se identifican mediante anticuerpos marcados. La reacción presenta las siguientes fases:

1. Adsorción de los anticuerpos monoclonales a los pocillos (anticuerpos anti- IL1- β , IL-6, IL-17).
2. *Primera incubación.* Se añaden las muestras a los pocillos. IL1- β , IL-6 e IL-17 presentes en la muestra se unen a los anticuerpos correspondientes. A continuación se añaden anticuerpos anti-IL1- β , IL-6 e IL-17 con conjugado de biotina, con objeto de unirse a la reacción anterior.
3. Mediante lavado se procede a la separación de la porción libre/unida.
4. *Segunda incubación.* Se añaden estreptavina-HRP para unirse al complejo biotín-conjugado. Se procede a continuación al lavado para la separación de la fracción libre/unida. Se añade a continuación la solución sustrato, que reacciona con HRP.
5. Medición de la absorción con espectrofotómetro a 450nm.
6. Evaluación de resultados mediante curva patrón.

3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se realizó empleando el programa de cálculo IBM® SPSS® Statistics versión 21.00.

3.1.- CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

El tamaño muestral del estudio fue determinado mediante el programa estadístico SPSS Statics. Para ello se estableció que para tener potencia suficiente que permitiese establecer diferencia de 1,2mm en el nivel de inserción clínico con una desviación estándar de 0,96mm asumiendo un riesgo alfa de 0,05 y una potencia de 95%, el tamaño muestral debía de ser de 14 sujetos por grupo (Daltaban et al., 2006).

3.2.- ANÁLISIS DE LOS DATOS

El sujeto fue considerado como la unidad de análisis.

Se calculó el valor medio para las variables clínicas (índice de placa, índice gingival, profundidad de sondaje, recesión gingival y nivel de inserción clínico). Las variables categóricas clínicas de índice de placa e índice gingival son transformadas en variables cuantitativas.

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de todas las variables analizadas para ambas cohortes de estudio. Se determinó la normalidad de distribución mediante el *test de Kolmogorov-Smirnov* y valorando la distribución de la muestra (apuntamiento y curtosis). En aquellas variables con distribución normal se aplicaron test paramétricos, mientras que en aquellas que no lo cumplían se aplicaron test no paramétricos (para todos los datos se muestran los dos test).

La homogeneidad de las cohortes del estudio se estableció mediante el *test t-student* para la variable edad y el *test chi-cuadrado* para el resto de variables socio-demográficas y para aquellas relacionadas con los antecedentes médicos.

La variable respuesta principal fueron las variables clínicas (profundidad de sondaje y nivel de inserción clínico), mientras que las variables secundarias fueron las socio-demográficas (edad actual, edad aparición menopausia, estado civil, nivel de estudios y nivel de ocupación), las sanitarias (habito tabáquico, uso de medicación crónica, enfermedades sistémicas y alergias), inmunológicas (concentración de IL-1 β , IL-6 e IL-17) y el resto de variables clínicas (índice de placa, índice gingival y, recesión gingival).

Las variables categóricas se compararon entre grupos de estudio empleando el *test de chi-cuadrado*, mientras que para las variables cuantitativas se empleó el *test t-student* y el *test U de Mann-Whitney*.

El análisis prospectivo de las variables paramétricas se realizó mediante un *análisis de la varianza (ANOVA) con medidas repetidas* en el factor tiempo, ello permitió la evaluación simultánea de varias visitas. Para el factor intrasujeto y la interacción del factor intrasujeto se realizó la corrección de GreenHouse-Geisser. Este test se realizó de forma independiente del resultado del test de la esfericidad (test de Mauchly). Por último, se llevaron a cabo comparaciones múltiples a posteriori para identificar el periodo o periodos responsables de las diferencias. En el caso de las variables no paramétricas se realizó el análisis empleando el *test de Friedman con la corrección de Bonferroni* junto con comparaciones *post hoc*.

La relación entre las variables inmunológicas y las variables clínicas se realizó mediante tablas de contingencia aplicando el *test de correlación de Pearson*. Se calculó el *odds ratio (OR)* en el caso en el existieran asociación estadísticamente significativa.

Con el fin de identificar posibles variables predictivas que pudiesen explicar una mayor pérdida de inserción, se analizó la influencia de las diferentes variables analizadas mediante un análisis multivariante. Se realizó un análisis de segmentación mediante el empleo del *test CHAID exhaustivo (Chi-square automatic interaction detector)* ya que permite la combinación de variables categóricas y cuantitativas. Se trata de un test no paramétrico basado en algoritmos que clasifica las variables independientes en variables predican de una variable dependiente. La significación del análisis de segmentación se realizó empleando el test de Bonferroni.

El nivel de significación para la obtención de diferencias significativas se estableció en $p < 0.05$.

RESULTADOS

1.- POBLACIÓN DE ESTUDIO

El proceso de selección de la **población de referencia** se llevó a cabo entre mayo de 2014 y mayo de 2016 en base a un reclutamiento consecutivo de mujeres posmenopáusicas en el Instituto Palacios de Salud y Medicina de la Mujer de Madrid (España). Se evaluó a un total de 317 mujeres postmenopáusicas de las cuales 166 fueron invitadas a participar en el estudio.

Tras aplicar los criterios de inclusión/exclusión 41 mujeres constituyeron la **población elegible**, de las cuales sólo 30 mujeres aceptan firmar el consentimiento informado y formar parte del estudio constituyendo la **población de estudio**.

De las 317 evaluadas inicialmente, 151 fueron descartadas por no presentar estadios de perimenopausia, 73 mujeres por estar fuera del rango de edad seleccionado para el estudio, 23 mujeres por consumo de bifosfonatos para el tratamiento de osteopenia, 15 mujeres por estar en mantenimiento periodontal tras haber recibido tratamiento periodontal básico previo, 10 mujeres por presentar menopausia quirúrgica y, 4 mujeres por consumo de antibioterapia sistémica en los 6 meses previos al estudio.

De las 41 mujeres que cumplen con los criterios de inclusión/exclusión, 7 no se comprometen a cumplir el periodo de seguimiento de 3 meses del estudio por razones personales, 3 presentaron cambio de domicilio y, 1 presentó un accidente cardiovascular.

La población de estudio se dividió en dos cohortes en base a su concentración de estradiol en suero, determinando el empleo de la terapia hormonal sustitutiva:

- ◆ La cohorte expuesta estuvo formada por 15 mujeres postmenopáusicas con niveles de estradiol en sangre superior a 30pg/ml, constituyendo la cohorte de mujeres estrógeno suficientes (ES).
- ◆ La cohorte no expuesta estuvo formada por 15 mujeres postmenopáusicas con niveles de estradiol en sangre inferiores o iguales a 30pg/ml, constituyendo la cohorte de mujeres estrógeno deficientes (ED).

Para el control adecuado del estudio, todas las causas de abandono fueron identificadas previamente con el fin de no alterar los resultados finales. No se observan diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables evaluadas entre ambos grupos.

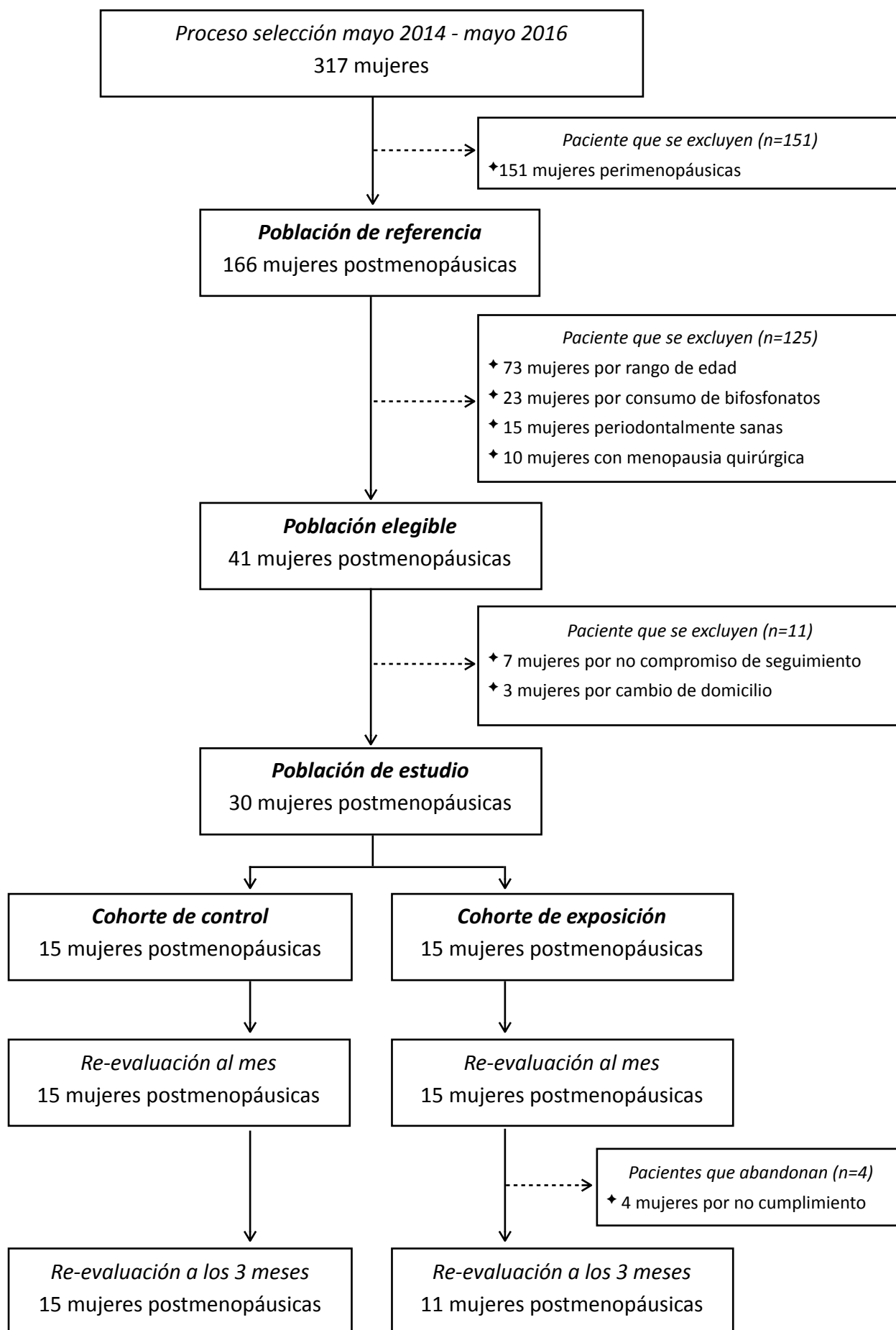


Figura 6. Diagrama de flujo de las mujeres incluidas en el estudio de cohortes prospectivo a 3 meses.

2.- CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA

Las 26 mujeres postmenopáusicas que cumplen con el seguimiento completo del estudio presentaban una edad media de $57,15 \pm 4,23$ años con un rango de edad comprendido entre 49 y 64 años. Existen diferencias estadísticamente significativas al 95% (t-student $p < 0,001$ y U de Mann-Whitney $p < 0,001$) entre ambas cohortes en términos de edad; la cohorte ES presenta una edad $53,91 \pm 2,59$ (con edades comprendidas entre 49 a 57 años), mientras que en la cohorte ED la edad media era de $59,53 \pm 3,58$.

La edad media de aparición de la menopausia fue $51,07 \pm 1,54$ años (rango de edad de 47 a 54 años). Cuando comparamos ambas cohortes se determina que existen diferencias significativas al 95% entre ellas (t-student $p = 0,041$, en U de Mann-Whitney no diferencias significativas al 95% $p = 0,069$), la cohorte ED presenta una edad de aparición de la menopausia de $51,60 \pm 1,29$ años; mientras que la cohorte estrógeno suficiente de $50,36 \pm 1,62$ años ($p < 0,05$).

	Cohorte Estrógeno Suficiente				Cohorte Estrógeno Deficiente				Diferencias intergrupo*
	Media	ES	IC 95%		Media	ES	IC 95%		
Edad	53,73 ± 2,52	0,76	52,04	55,43	59,43 ± 3,63	0,93	57,40	61,43	0,000^a 0,000^b (p<0,001)
Edad menopausia	50,36 ± 1,62	0,49	49,26	51,45	51,60 ± 1,29	0,33	50,88	52,31	0,041^a 0,069^b (p<0,05)

Tabla 11. Edad media de las cohortes de la muestra

^aEstadístico intergrupo: test de T-student para muestras independientes

^bEstadístico intergrupo: test de U de Mann-Whitney para muestras independientes

ES, error estándar; IC 95%, intervalo de confianza al 95%

Respecto a la variable exposición, si que existen diferencias estadísticamente significativas entre ambas cohortes. La cohorte ES presenta una concentración media de estradiol en suero de $41,22 \pm 4,17$ pg/mL (rango de 10,10 a 47,00pg/mL), siendo la concentración media en la cohorte ED de $17,69 \pm 4,00$ pg/ml. Existen diferencias significativas al 95% (t-student $p < 0,001$ y U de Mann-Whitney $p < 0,001$) en la concentración media de estradiol entre ambas cohortes.

Para el resto de hormonas analizadas, las concentraciones medias fueron de $12,80 \pm 6,44$ mU/mL para la hormona luteinizante y $46,43 \pm 11,66$ mU/mL para la hormona folículo estimulante en la cohorte ES; en la cohorte ED las concentraciones medias fueron de $1,33 \pm 8,48$ mU/mL y $68,77 \pm 14,03$ mU/mL respectivamente. Existen diferencias significativas al 95% (t-student $p < 0,001$ y U de Mann-Whitney $p < 0,001$) entre ambas cohortes respecto a la concentración media de hormona luteinizante y hormona folículo estimulante. Existen diferencias significativas al 95% (chi-cuadrado de Pearson $p < 0,001$) entre la cohorte ES y la cohorte ED para la concentración media de progesterona.

	Cohorte Estrógeno Suficiente	Cohorte Estrógeno Deficiente	Diferencias intergrupo*
Estradiol	$41,22 \pm 4,17$ pg/mL	$17,69 \pm 4,00$ pg/ml	0,000 ($p < 0,001$)
Progesterona	$< 0,1$ ng/mL	$< 0,1$ ng/mL	0,000 ($p < 0,001$)
LH	$12,80 \pm 6,44$ mU/mL	$31,11 \pm 8,48$ mU/mL	0,000 ($p < 0,001$)
FSH	$46,43 \pm 11,66$ mU/mL	$68,77 \pm 14,03$ mU/mL	0,000 ($p < 0,001$)

Tabla 12. Concentraciones medias hormonas sexuales de la muestra

*Estadístico intergrupo: test de T-student a excepción de progesterona (test Chi cuadrado de Pearson)

LH, hormona luteinizante; FSH, hormona folículo estimulante; DS, diferencias significativas

La Tabla 13, representa la distribución de la población de estudio en sus dos cohortes respecto a su estado civil, nivel de estudios y profesión. No existen diferencias estadísticamente significativas al 95% ($p > 0,05$) entre ambas cohortes en ninguna de las variables socio-demográficas mencionadas anteriormente.

En la cohorte ES la mayor parte de las mujeres están casada (72,73%), seguidas de viudas, separadas y en parejas en la misma proporción (9,09%). En la cohorte ED la mayoría de las mujeres también están casadas (73,33%) mientras que el resto están separadas (20,01%) o viven en pareja (6,66%). En ambas cohortes la mayoría de las mujeres poseen una licenciatura/diplomatura (72,72% en ES y 70,12 en ED). En la cohorte ED la mayoría de las mujeres trabajan por cuenta ajena (60,00%) mientras que en la cohorte ES la mayoría son amas de casa (36,36%).

		Cohorte Estrógeno Suficiente	Cohorte Estrógeno Deficiente	Diferencias intergrupo*
Estado Civil	Soltera	0	0	0,593 (p>0,05)
	Casada	8	11	
	Viuda	0	0	
	Separada	1	3	
	Pareja	1	1	
	Otros	0	0	
Nivel de Estudios	Primaria	0	0	0,719 (p>0,05)
	Secundaria	1	3	
	Formación profesional	2	3	
	Licenciatura/diplomatura	8	9	
Profesión	Cuenta ajena	2	9	0,072 (p>0,05)
	Cuenta propia	3	0	
	Estudiante	0	0	
	Ama de casa	4	4	
	Jubilada	2	2	
	Parada	0	0	
	Otros	0	0	

Tabla 13. Variables socio-demográfica de la muestra

*Estadístico intergrupo: test de Chi cuadrado

		Cohorte Estrógeno Suficiente	Cohorte Estrógeno Deficiente	Diferencias intergrupo*
Hábito tabáquico	No fumadora	3	4	0,878 (p>0,05)
	Sí fumadora	5	6	
	Ex fumadora	3	5	
Enfermedades sistémicas	Sí	5	7	0,951 (p>0,05)
	No	6	8	
Medicación	Sí	5	8	0,691 (p>0,05)
	No	6	7	
Alergias	Sí	1	1	0,382 (p>0,05)
	No	10	14	

Tabla 14. Variables historia medica y oral de la muestra

*Estadístico intergrupo: test de Chi cuadrado de Pearson

La Tabla 14, representa la distribución de la población de estudio en base a variables relacionadas con la salud de las participantes. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas al 95% ($p>0,05$) entre ambas cohortes en ninguna de las variables relacionadas con la salud.

En relación al hábito tabáquico, no existen diferencias significativas al 95% (chi-cuadrado de Pearson $p=0,878$) en la distribución de fumadores, no fumadores y ex fumadores entre ambas cohortes. La cohorte estrógeno suficiente presenta una menor duración del hábito así como un menor consumo determinado por el número de paquetes de tabaco por año sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas entre ambas cohortes ($p>0,05$).

Las principales enfermedades sistémicas descritas por las pacientes se refieren a problemas emocionales y vasomotores. De hecho, la mayoría de la mujeres presenta al menos un síntoma emocional y vasomotor (93,3% y 90% respectivamente) y, aproximadamente la mitad de las mismas padece algún síntoma cardiovascular (56,6%); mientras que sólo el 40% de la muestra presenta síntomas genito-urinarios. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas al 95% (chi-cuadrado de Pearson $p=0,951$) entre ambas cohortes respecto a la presencia o ausencia de enfermedades sistémicas.

La mitad de la muestra consume algún medicamento para el tratamiento de los síntomas anteriormente descritos. Destacan el consumo de ansiolíticos y/o antidepresivos, seguido de los antihipertensivos. No existen diferencias significativas al 95% (chi-cuadrado de Pearson $p=0,691$) entre ambas cohortes respecto al consumo de medicamentos, así como tampoco respecto a la presencia de alergias (chi-cuadrado de Pearson $p=0,382$). Sólo dos mujeres presentaron alergias relacionadas con los ácaros.

3.- VARIABLES CLÍNICAS

3.1.- ÍNDICE DE PLACA

En la visita basal, el valor medio del índice de placa fue de $0,96 \pm 0,20$ para la cohorte ES y de $0,92 \pm 0,27$ para la cohorte ED. En la visita de re-evaluación al mes, el valor medio del índice de placa fue $0,27 \pm 0,17$ para la cohorte ES y de $0,33 \pm 0,29$ para la cohorte ED. En la visita final a los tres meses el valor medio del índice de placa fue de $0,26 \pm 0,20$ para la cohorte ES y de $0,38 \pm 0,32$ para la cohorte ED.

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,117$) en el comportamiento de las cohortes ED y ES en el índice de placa medio en boca a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) del índice de placa medio a lo largo del estudio, mostrando una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación en ambas cohortes. No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,644$) entre la visita de re-evaluación al mes y la de los tres meses en ambas cohortes.

No existen diferencias significativas al 95% ($p=0,911$) entre la cohorte ES y la cohorte ED en índice de placa media. La cohorte ES presenta una reducción en el índice de placa medio entre la visita basal y la re-evaluación al mes de forma significativa ($p<0,001$) mostrando una tendencia a seguir reduciendo en la visita a los tres meses sin alcanzar diferencias significativas ($p=0,175$). Por otro lado, la cohorte ED presenta una reducción de forma significativa ($p<0,001$) entre la visita basal y la re-evaluación al mes con una tendencia a incrementar a los tres meses sin alcanzar diferencias significativas ($p=0,084$).

	Basal	1 mes	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	$0,96 \pm 0,20$	$0,27 \pm 0,17$	$0,26 \pm 0,20$
Cohorte Estrógeno Deficiente	$0,92 \pm 0,27$	$0,33 \pm 0,29$	$0,38 \pm 0,32$
		$p < 0,001^a$	$p = 0,644^a$

Tabla 15. Evolución del índice de placa medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio entre cohortes

^aTest ANOVA de repeticiones

	Basal	1 mes	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	0,96 ± 0,20	0,27 ± 0,17	0,26 ± 0,20
		$p < 0,001^a$	$p = 0,175^a$
Cohorte Estrógeno Deficiente	0,92 ± 0,27	0,33 ± 0,29	0,38 ± 0,32
		$p < 0,001^a$	$p = 0,084^a$

Tabla 16. Evolución del índice de placa medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio intra cohortes

^aTest ANOVA de repeticiones

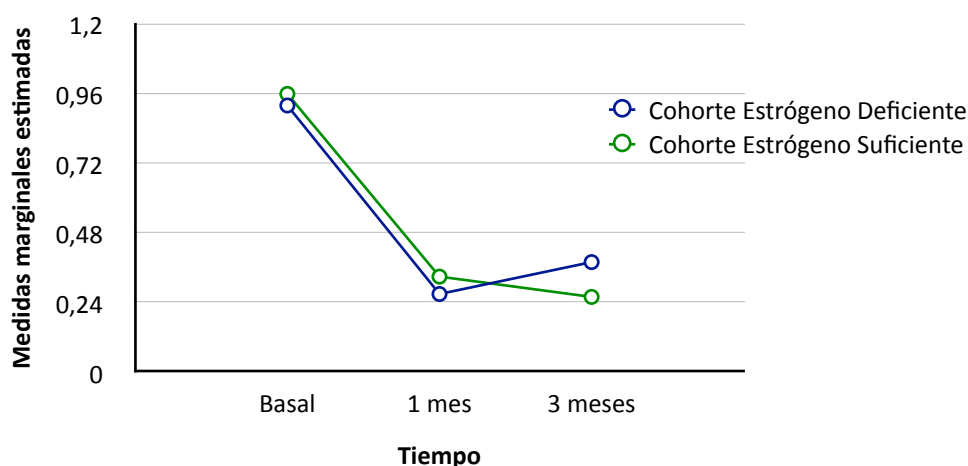


Figura 7. Evolución del índice de placa medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio

Diferencias entre localizaciones anteriores y posteriores

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,241$ para localizaciones anteriores y, G-G $p=0,243$ para localizaciones posteriores) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto al índice de placa en base a localizaciones a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$ para ambas localizaciones) del índice de placa a lo largo del estudio, mostrando una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación.

No existen diferencias significativas al 95% ($p=0,618$ para localizaciones anteriores y $p=0,724$ para localizaciones posteriores) entre la cohorte ES y la cohorte ED en índice de placa media.

		Basal	1 mes	3 meses
Localización Anterior	Cohorte Estrógeno Suficiente	0,84 ± 0,30	0,24 ± 0,28	0,15 ± 0,17
	Cohorte Estrógeno Deficiente	0,75 ± 0,24	0,13 ± 0,19	0,22 ± 0,37
			$p < 0,001$	$p = 0,949$
Localización Posterior	Cohorte Estrógeno Suficiente	1,03 ± 0,26	0,30 ± 0,19	0,29 ± 0,37
	Cohorte Estrógeno Deficiente	1,03 ± 0,36	0,38 ± 0,23	0,48 ± 0,33
			$p < 0,001^a$	$p = 0,342^a$

Tabla 17. Índice de placa en base a localizaciones anteriores y posteriores a lo largo del estudio

^aTest ANOVA de repeticiones

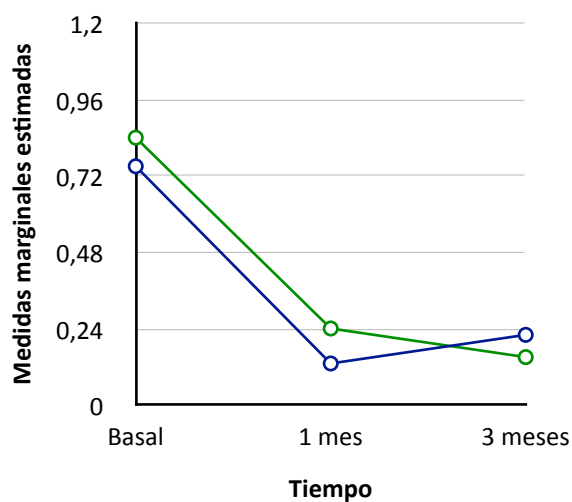


Figura 8. Evolución del índice de placa en localizaciones anteriores a lo largo del estudio

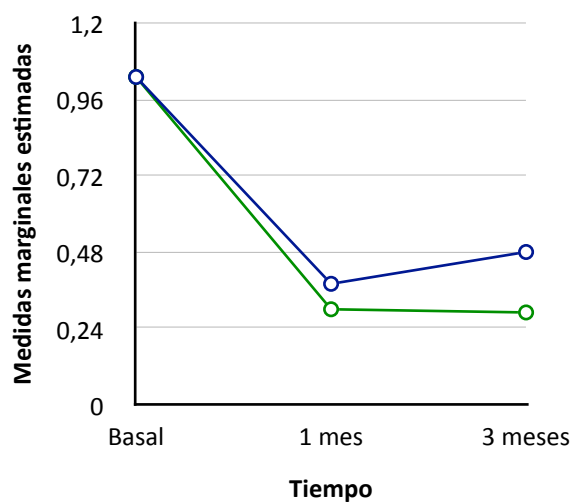


Figura 9. Evolución del índice de placa en localizaciones posteriores a lo largo del estudio

Diferencias entre localizaciones interproximales y libres

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,124$ para localizaciones interproximales y, G-G $p=0,250$ para localizaciones libres) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto al índice de placa en base a localizaciones a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$ para ambas localizaciones) del índice de placa a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación.

No existen diferencias significativas al 95% ($p=0,807$ para localizaciones interproximales y $p=0,701$ para localizaciones libres) entre la cohorte ES y la cohorte ED en índice de placa media.

		Basal	1 mes	3 meses
Localización Interproximal	Cohorte Estrógeno Suficiente	1,05 ± 0,23	0,37 ± 0,30	0,28 ± 0,21
	Cohorte Estrógeno Deficiente	1,02 ± 0,29	0,32 ± 0,20	0,43 ± 0,38
			$p < 0,001$	$p = 0,883$
Localización Libre	Cohorte Estrógeno Suficiente	0,74 ± 0,21	0,19 ± 0,28	0,17 ± 0,20
	Cohorte Estrógeno Deficiente	0,67 ± 0,27	0,12 ± 0,13	0,22 ± 0,25
			$p < 0,001^a$	$p = 0,333^a$

Tabla 18. Índice de placa en base a localizaciones interproximales y libres a lo largo del estudio

^aTest ANOVA de repeticiones

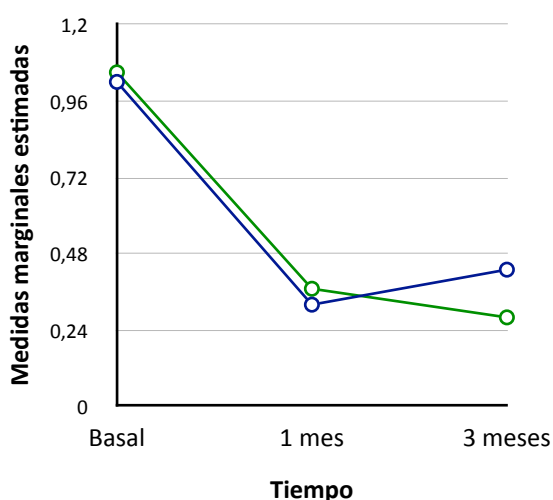


Figura 10. Evolución del índice de placa en localizaciones interproximales a lo largo del estudio

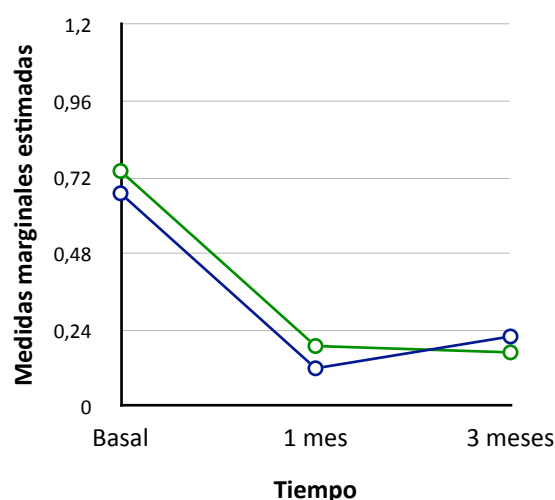


Figura 11. Evolución del índice de placa en localizaciones libres a lo largo del estudio

Diferencias en función de las concentraciones de estradiol

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,368$) en el comportamiento del índice de placa medio en boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) del índice de placa a lo largo del estudio, mostrando una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación. Los valores se mantienen en el tiempo entre la re-evaluación al mes y a los 3 meses (G-G $p=0,644$).

No existen diferencias significativas al 95% ($p=0,897$) en función de las diferentes concentraciones de estradiol en sangre respecto del índice de placa medio.

	Basal	1 mes	3 meses
10,1-20 pg/mL	0,89 ± 0,28	0,25 ± 0,17	0,41 ± 0,10
20,1-30 pg/mL	0,91 ± 0,31	0,28 ± 0,13	0,31 ± 0,38
30,1-40 pg/mL	1,02 ± 0,11	0,27 ± 0,26	0,31 ± 0,27
≥40,1 pg/mL	0,96 ± 0,16	0,40 ± 0,39	0,21 ± 0,28
		$p<0,001^a$	$p=0,644^a$

Tabla 19. Evolución del índice de placa medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio entre las diferentes concentraciones de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

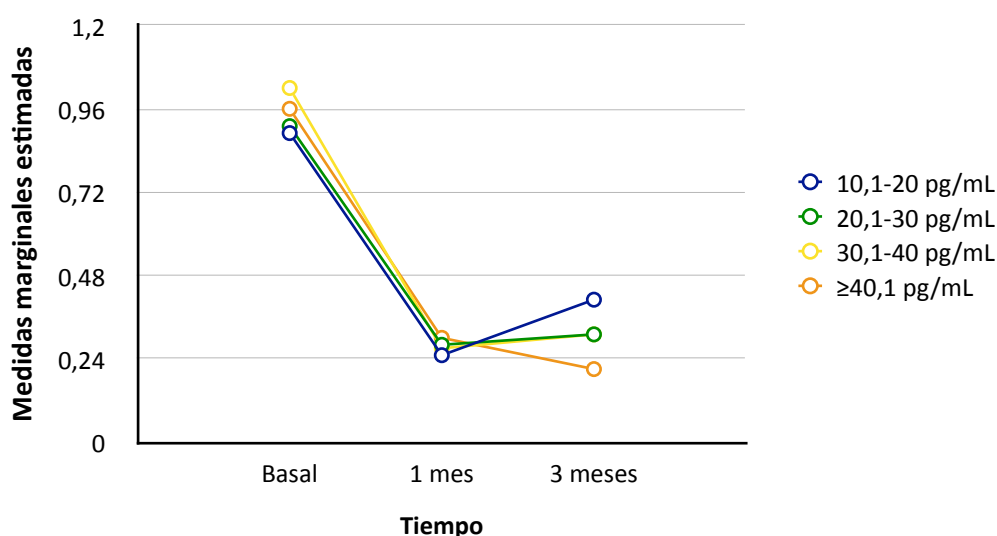


Figura 12. Evolución del índice de placa medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre

Aquellas mujeres con una concentración de estradiol entre 10,1-20 pg/ml muestran reducciones de forma significativa en el índice de placa medio entre la visita basal y la re-evaluación al mes ($p<0,001$) sin embargo a los tres meses muestran una tendencia a incrementar sin alcanzar diferencias significativas ($p=0,415$).

El mismo comportamiento se pone de manifiesto para las concentraciones entre 20,1-30 pg/ml y 30,1-40pg/ml. Ambas muestran reducción de forma estadísticamente significativa ($p<0,001$) entre la visita basal y la re-evaluación al mes así como una tendencia a incrementar a los tres meses sin alcanzar diferencias significativas ($p=0,295$ y $p=0,091$ respectivamente).

Las concentraciones de estradiol mayores o iguales a 40pg/ml muestran una reducción de forma estadísticamente significativa ($p<0,001$) entre la visita basal y la re-evaluación al mes pero en este caso se aprecia una continua reducción a los tres meses pero de forma no significativa ($p=,0380$).

	Basal	1 mes	3 meses
10,1-20 pg/mL	$0,89 \pm 0,28$	$0,25 \pm 0,17$	$0,41 \pm 0,10$
		$p<0,001^a$	$p=0,415^a$
20,1-30 pg/mL	$0,91 \pm 0,31$	$0,28 \pm 0,13$	$0,31 \pm 0,38$
		$p<0,001^a$	$p=0,295^a$
30,1-40 pg/mL	$1,02 \pm 0,11$	$0,27 \pm 0,26$	$0,31 \pm 0,27$
		$p<0,001^a$	$p=0,091^a$
$\geq 40,1$ pg/mL	$0,96 \pm 0,16$	$0,40 \pm 0,39$	$0,21 \pm 0,28$
		$p<0,001^a$	$p=0,380^a$

Tabla 20. Evolución del índice de placa medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio para cada concentración de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

3.2.- ÍNDICE GINGIVAL

Los valores medios del índice gingival en la visita basal fueron de $0,54 \pm 0,17$ para la cohorte ES y de $0,70 \pm 0,35$ para la cohorte ED. En la visita de re-evaluación al mes, el valor medio del índice gingival fue $0,28 \pm 0,19$ para la cohorte ES y de $0,38 \pm 0,14$ para la cohorte ED. En la visita final a los tres meses el valor medio del índice gingival fue de $0,26 \pm 0,15$ para la cohorte ES y de $0,44 \pm 0,20$ para la cohorte ED.

Existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,012$) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto al índice gingival medio en boca a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) del índice gingival a lo largo del estudio para la cohorte ED, mostrando una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación. Los valores se mantienen en el tiempo entre la re-evaluación al mes y a los 3 meses (G-G $p=0,299$). También se observa la misma evolución significativa al 95% (G-G $p=0,003$) en la cohorte ES, mostrando en este caso una reducción significativa entre la visita de re-evaluación al mes y a los 3 meses (G-G $p=0,044$).

Existen diferencias significativas al 95% (t-student $p=0,019$ y, U de Mann-Whitney $p=0,032$) entre la cohorte ES y la cohorte ED deficiente en índice gingival medio en la visita basal. No existen diferencias significativas al 95% entre la cohorte ES y la cohorte ED en índice gingival medio en la visita de re-evaluación al mes (t-student $p=0,159$ y, U de Mann-Whitney $p=0,259$), así como tampoco en la visita de re-evaluación a los 3 meses (t-student $p=0,326$ y, U de Mann-Whitney $p=0,384$).

	Basal	1 mes	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	$0,54 \pm 0,17$	$0,28 \pm 0,19$	$0,26 \pm 0,15$
Cohorte Estrógeno Deficiente	$0,70 \pm 0,35$	$0,38 \pm 0,14$	$0,44 \pm 0,20$
	$p = 0,019^a$ $p = 0,032^b$	$p = 0,159^a$ $p = 0,259^b$	$p = 0,326^a$ $p = 0,384^b$

Tabla 21. Evolución del índice gingival medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio entre cohortes

^a Test t-student para muestras independientes

^b Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes

	Basal	1 mes	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	0,54 ± 0,17	0,28 ± 0,19	0,26 ± 0,15
		$p = 0,074^a$	$p = 0,044^a$
Cohorte Estrógeno Deficiente	0,70 ± 0,35	0,38 ± 0,14	0,44 ± 0,20
		$p < 0,001^a$	$p = 0,299^a$

Tabla 22. Evolución del índice de placa medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio intra cohortes

^aTest ANOVA de repeticiones

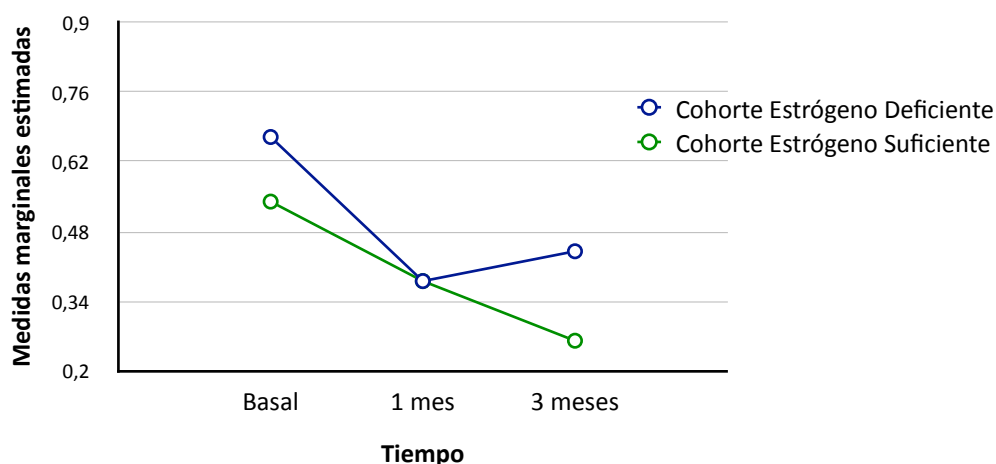


Figura 13. Evolución del índice gingival medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio

Diferencias entre localizaciones anteriores y posteriores

Existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,028$ para localizaciones anteriores y, G-G $p=0,011$ para localizaciones posteriores) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto al índice gingival en base a localizaciones a lo largo del estudio.

Existen diferencias significativas al 95% (t-student $p=0,045$ en U de Mann-Whitney no significativo al 95% $p=0,217$) entre la cohorte ES y la cohorte ED en índice gingival medio en la visita basal para las localizaciones posteriores; no existen diferencias significativas al 95% entre ambas cohortes para las localizaciones anteriores en la visita basal.

No existen diferencias significativas al 95% entre la cohorte ES y la cohorte ED en índice gingival en la visita de re-evaluación al mes, así como tampoco en la visita de re-evaluación a los 3 meses en las localizaciones anteriores y posteriores.

		Basal	1 mes	3 meses
Localización Anterior	Cohorte Estrógeno Suficiente	0,41 ± 0,26	0,30 ± 0,25	0,24 ± 0,21
	Cohorte Estrógeno Deficiente	0,69 ± 0,41	0,24 ± 0,23	0,23 ± 0,19
		p = 0,051 ^a p = 0,077 ^b	p = 0,544 ^a p = 0,721 ^b	p = 0,967 ^a p = 0,838 ^b
Localización Posterior	Cohorte Estrógeno Suficiente	0,65 ± 0,18	0,46 ± 0,22	0,30 ± 0,16
	Cohorte Estrógeno Deficiente	0,90 ± 0,35	0,32 ± 0,13	0,43 ± 0,25
		p = 0,045 ^a p = 0,217 ^b	p = 0,087 ^a p = 0,148 ^b	p = 0,155 ^a p = 0,121 ^b

Tabla 23. Índice gingival en base a localizaciones anteriores y posteriores a lo largo del estudio

^a Test t-student para muestras independientes

^b Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes

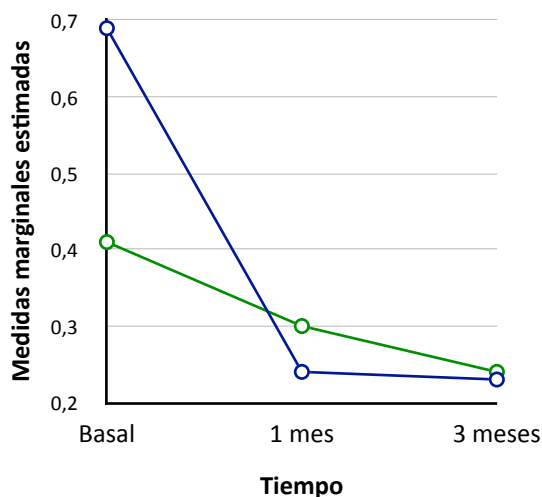


Figura 14. Evolución del índice gingival en localizaciones anteriores a lo largo del estudio

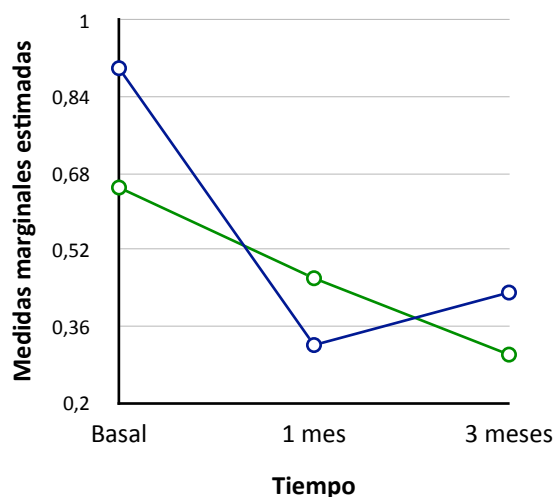


Figura 15. Evolución del índice gingival en localizaciones posteriores a lo largo del estudio

Diferencias entre localizaciones interproximales y libres

Existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,015$ para localizaciones interproximales y, G-G $p=0,023$ para localizaciones libres) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto al índice gingival en base a localizaciones a lo largo del estudio.

Existen diferencias significativas al 95% (t-student $p=0,032$ y, U de Mann-Whitney $p=0,036$) entre la cohorte ES y la cohorte ED en el índice gingival medio en la visita basal para las localizaciones interproximales; existen diferencias significativas al 95% (t-student $p=0,037$ y, U de Mann-Whitney $p=0,032$) entre ambas cohortes para las localizaciones libres en la visita basal.

No existen diferencias significativas al 95% entre la cohorte ES y la cohorte ED en índice gingival en la visita de re-evaluación al mes, así como tampoco en la visita de re-evaluación a los 3 meses en las localizaciones interproximales y libres.

		Basal	1 mes	3 meses
Localización Interproximal	Cohorte Estrógeno Suficiente	$0,59 \pm 0,20$	$0,46 \pm 0,21$	$0,30 \pm 0,16$
	Cohorte Estrógeno Deficiente	$0,87 \pm 0,40$	$0,36 \pm 0,17$	$0,42 \pm 0,25$
		$p = 0,032^a$ $p = 0,036^b$	$p = 0,185^a$ $p = 0,164^b$	$p = 0,194^a$ $p = 0,259^b$
Localización Libre	Cohorte Estrógeno Suficiente	$0,44 \pm 0,24$	$0,22 \pm 0,19$	$0,19 \pm 0,16$
	Cohorte Estrógeno Deficiente	$0,68 \pm 0,29$	$0,13 \pm 0,11$	$0,17 \pm 0,14$
		$p = 0,037^a$ $p = 0,032^b$	$p = 0,225^a$ $p = 0,474^b$	$p = 0,832^a$ $p = 0,878^b$

Tabla 24. Índice gingival en base a localizaciones interproximales y libres a lo largo del estudio

^a Test t-student para muestras independientes

^b Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes

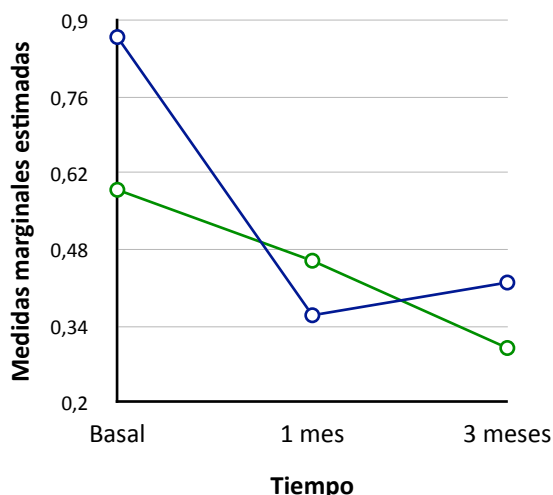


Figura 16. Evolución del índice gingival en localizaciones interproximales a lo largo del estudio

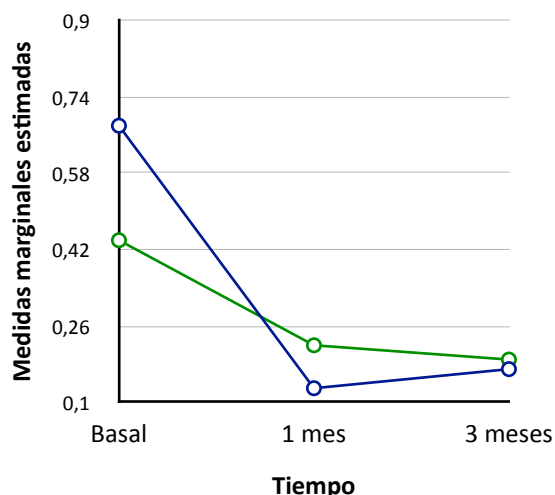


Figura 17. Evolución del índice gingival en localizaciones libres a lo largo del estudio

Diferencias en función de las concentraciones de estradiol

Existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,041$) en el comportamiento del índice gingival medio en boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre.

Existen diferencias significativas al 95% (ANOVA $p=0,006$ y Kruskal-Wallis $p=0,025$) para el índice gingival en función de la concentración de estradiol en sangre en la visita de re-evaluación al mes.

No existen diferencias significativas al 95% en función de la concentración de estradiol en sangre para el índice gingival en la visita basal (ANOVA $p=0,196$ y Kruskal-Wallis $p=0,149$). Tampoco existen diferencias significativas al 95% en la visita de re-evaluación de los 3 meses (ANOVA $p=0,620$ y Kruskal-Wallis $p=0,567$) entre las diferentes concentraciones de estradiol en sangre.

	Basal	1 mes	3 meses
10,1-20 pg/mL	0,79±0,39	0,41±0,10	0,42±0,20
20,1-30 pg/mL	0,83±0,27	0,37±0,18	0,39±0,21
30,1-40 pg/mL	0,50±0,03	0,35±0,14	0,30±0,15
≥40,1 pg/mL	0,52±0,24	0,32±0,13	0,23±0,16
	p = 0,196 ^a p = 0,149 ^b	p = 0,006 ^a p = 0,025 ^b	p = 0,620 ^a p = 0,567 ^b

Tabla 25. Evolución del índice gingival medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio entre las diferentes concentraciones de estradiol en sangre

^a Test ANOVA para muestras independientes

^b Prueba Kruskal-Wallis para muestras independientes

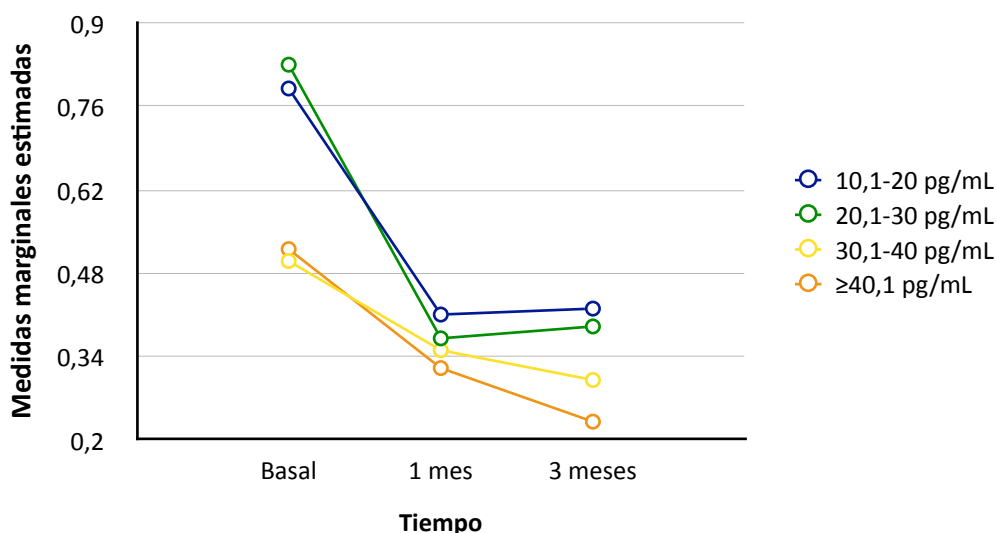


Figura 18. Evolución del índice gingival medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre

En la visita de re-evaluación al mes se determinaron diferencias significativas al 95% en función de la concentración de estradiol en sangre para el índice de sangrado medio. Cuando se compararon los diferentes grados de concentración se determinó que concentraciones de estradiol de 10,1-20 pg/mL inducían a un aumento del sangrado de 0,29; mientras que concentraciones mas elevadas 30,1-40 pg/mL inducían a una reducción del sangrado de -0,27.

Muestra	Estadístico de prueba	Estándar error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. Ajust.
10,1-20 / 40,1	-0,783	3,945	-0,199	0,843	1,000
10,1-20 / 20,1-30	-6,700	4,184	-1,601	0,109	0,656
10,1-20 / 30,1-40	-11,600	4,184	-2,772	0,006	0,033
40,1 / 20,1-30	5,917	4,626	1,279	0,201	1,000
40,1 / 30,1-40	10,817	4,626	2,338	0,019	0,116
20,1-30 / 30,1-40	-4,900	4,832	-1,014	0,311	1,000

Tabla 26. Comparaciones por parejas de estradiol

Test de Kruskal-Wallis con pruebas Post Hoc de Bonferroni

Aquellas mujeres con una concentración de estradiol entre 10,1-20 pg/ml y 20,1-30 pg/ml muestran reducciones de forma significativa en el índice gingival medio entre la visita basal y la re-evaluación al mes ($p=0,007$ y $p=0,003$ respectivamente) sin embargo a los tres meses muestran una tendencia a incrementar sin alcanzar diferencias significativas ($p=0,661$ y $p=0,345$ respectivamente).

Las concentraciones de estradiol entre 30,1-40 pg/ml así como aquellas mayores o iguales a 40 pg/ml no muestran una reducción estadísticamente significativa ($p=0,064$ y $p=0,700$) entre la visita basal y la re-evaluación al mes. Las concentraciones de estradiol entre 30,1-40 pg/ml muestran un descenso en el índice gingival medio a los tres meses sin alcanzar diferencias significativas ($p=0,818$) mientras que las concentraciones mayores o iguales a 40 pg/ml tienden a mostrar un descenso estadísticamente significativo a los tres meses ($p=0,043$).

	Basal	1 mes	3 meses
10,1-20 pg/mL	0,79±0,39	0,41±0,10	0,42±0,20
		$p=0,007^a$	$p=0,661^a$
20,1-30 pg/mL	0,83±0,27	0,37±0,18	0,39±0,21
		$p=0,003^a$	$p=0,345^a$
30,1-40 pg/mL	0,50±0,03	0,35±0,14	0,30±0,15
		$p=0,064^a$	$p=0,818^a$
≥40,1 pg/mL	0,52±0,24	0,32±0,13	0,23±0,16
		$p<0,700^a$	$p=0,043^a$

Tabla 27. Evolución del índice gingival medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio para cada concentración de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

3.3.- RECESIÓN GINGIVAL

El valor medio de la recesión gingival fue de $0,66 \pm 0,32$ mm en la cohorte ES y de $0,48 \pm 0,43$ mm para la cohorte ED en la visita basal. En la visita de re-evaluación al mes, el valor medio la recesión gingival fue $1,04 \pm 0,69$ mm para la cohorte ES y de $0,60 \pm 0,47$ mm para la cohorte ED. En la visita final a los tres meses el valor medio la recesión gingival fue de $0,92 \pm 0,48$ mm para la cohorte ES y de $0,60 \pm 0,37$ mm para la cohorte ED.

Existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,013$) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto a la recesión gingival media en boca a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p=0,004$) del índice gingival a lo largo del estudio para la cohorte ED y la cohorte ES, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación. Los valores se mantienen en el tiempo entre la re-evaluación al mes y a los 3 meses en la cohorte ED (G-G $p=0,961$) y en la cohorte ES (G-G $p=0,092$).

No existen diferencias significativas al 95% entre la cohorte ES y la cohorte ED respecto a la recesión gingival media en la visita basal (t-student $p=0,260$ y, U de Mann-Whitney $p=0,134$), así como tampoco en la visita de re-evaluación a los 3 meses (t-student $p=0,074$ y, U de Mann-Whitney $p=0,097$).

Existen diferencias significativas al 95% (U de Mann-Whitney $p=0,041$, en t-student no significativo al 95% $p=0,055$) entre la cohorte ES y la cohorte ED para la recesión gingival media en la visita de re-evaluación al mes.

	Basal	1 mes	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	$0,66 \pm 0,32$	$1,04 \pm 0,62$	$0,92 \pm 0,48$
Cohorte Estrógeno Deficiente	$0,48 \pm 0,43$	$0,60 \pm 0,47$	$0,60 \pm 0,37$
	$p = 0,260^a$ $p = 0,134^b$	$p = 0,055^a$ $p = 0,041^b$	$p = 0,074^a$ $p = 0,097^b$

Tabla 28. Evolución de la recesión gingival media correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio entre cohortes

^a Test t-student para muestras independientes

^b Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes

	Basal	1 mes	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	0,66 ± 0,32	1,04 ± 0,62	0,92 ± 0,48
		$p = 0,074^a$	$p = 0,044^a$
Cohorte Estrógeno Deficiente	0,48 ± 0,43	0,60 ± 0,47	0,60 ± 0,37
		$p < 0,001^a$	$p = 0,299^a$

Tabla 29. Evolución de la recesión gingival media correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio intra cohortes

^aTest ANOVA de repeticiones

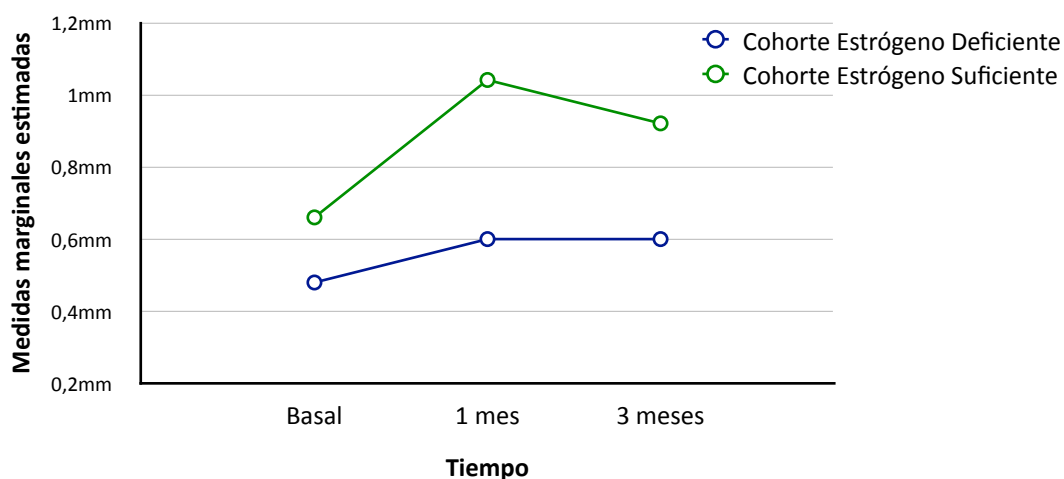


Figura 19. Evolución de la recesión gingival media correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio

Diferencias entre localizaciones anteriores y posteriores

Existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,025$ para localizaciones anteriores y, G-G $p=0,034$ para localizaciones posteriores) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto a la recesión gingival en base a localizaciones a lo largo del estudio.

No existen diferencias significativas al 95% entre la cohorte ES y la cohorte ED respecto a la recesión gingival en la visita basal (t-student $p=0,267$ y, U de Mann-Whitney $p=0,054$) para las localizaciones anteriores. Si existen diferencias significativas al 95% (U de Mann-Whitney $p=0,027$, en t-student no significativo al 95% $p=0,053$) en la visita de re-evaluación al mes así como a los 3 meses (U de Mann-Whitney $p=0,047$, en t-student no significativo al 95% $p=0,063$).

No existen diferencias significativas al 95% (t-student $p=0,394$ y, U de Mann-Whitney $p=0,281$) entre la cohorte ES y la cohorte ED en la recesión gingival en la visita basal para las localizaciones posteriores; no existen diferencias significativas al 95% entre ambas cohortes en la visita de re-evaluación al mes (t-student $p=0,141$ y, U de Mann-Whitney $p=0,121$) ni en la visita a los 3 meses (t-student $p=0,154$ y, U de Mann-Whitney $p=0,198$).

		Basal	1 mes	3 meses
Localización Anterior	Cohorte Estrógeno Suficiente	$0,73 \pm 0,42$	$1,19 \pm 0,80$	$1,01 \pm 0,59$
	Cohorte Estrógeno Deficiente	$0,49 \pm 0,59$	$0,60 \pm 0,54$	$0,60 \pm 0,46$
		$p = 0,267^a$ $p = 0,054^b$	$p = 0,053^a$ $p = 0,027^b$	$p = 0,063^a$ $p = 0,047^b$
Localización Posterior	Cohorte Estrógeno Suficiente	$0,58 \pm 0,28$	$0,89 \pm 0,49$	$0,82 \pm 0,41$
	Cohorte Estrógeno Deficiente	$0,47 \pm 0,33$	$0,60 \pm 0,46$	$0,60 \pm 0,36$
		$p = 0,394^a$ $p = 0,281^b$	$p = 0,141^a$ $p = 0,121^b$	$p = 0,154^a$ $p = 0,198^b$

Tabla 30. Recesión gingival en base a localizaciones anteriores y posteriores a lo largo del estudio

^a Test t-student para muestras independientes

^b Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes

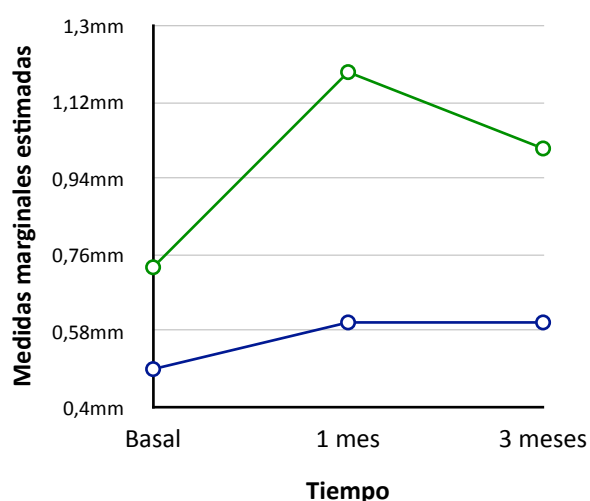


Figura 20. Evolución de la recesión gingival en localizaciones anteriores a lo largo del estudio

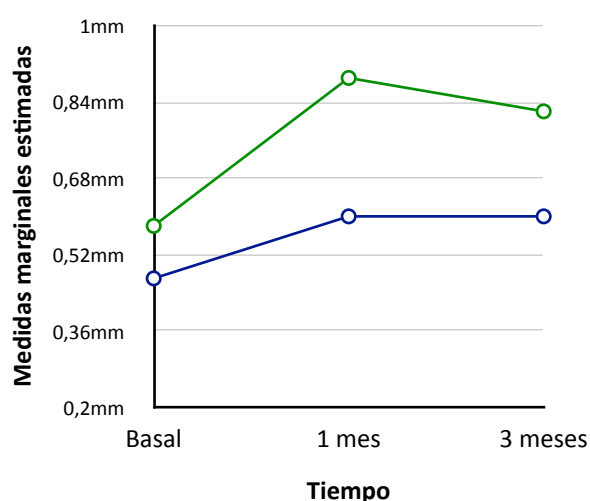


Figura 21. Evolución de la recesión gingival en localizaciones posteriores a lo largo del estudio

Diferencias en función de las concentraciones de estradiol

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,051$) en el comportamiento de la recesión gingival media en boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) de la recesión gingival media a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación. Los valores se mantienen en el tiempo entre la re-evaluación al mes y a los 3 meses (G-G $p=0,087$).

No existen diferencias significativas al 95% ($p=0,092$) en función de las diferentes concentraciones de estradiol en sangre respecto de la recesión gingival media.

	Basal	1 mes	3 meses
10,1-20 pg/mL	0,55±0,47	0,65±0,53	0,65±0,41
20,1-30 pg/mL	0,35±0,35	0,51±0,37	0,49±0,29
30,1-40 pg/mL	0,87±0,27	1,37±0,59	1,17±0,42
≥40,1 pg/mL	0,49±0,25	0,76±0,57	0,71±0,46
		$p<0,001^a$	$p=0,087^a$

Tabla 31. Evolución de la recesión gingival media correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio entre las diferentes concentraciones de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

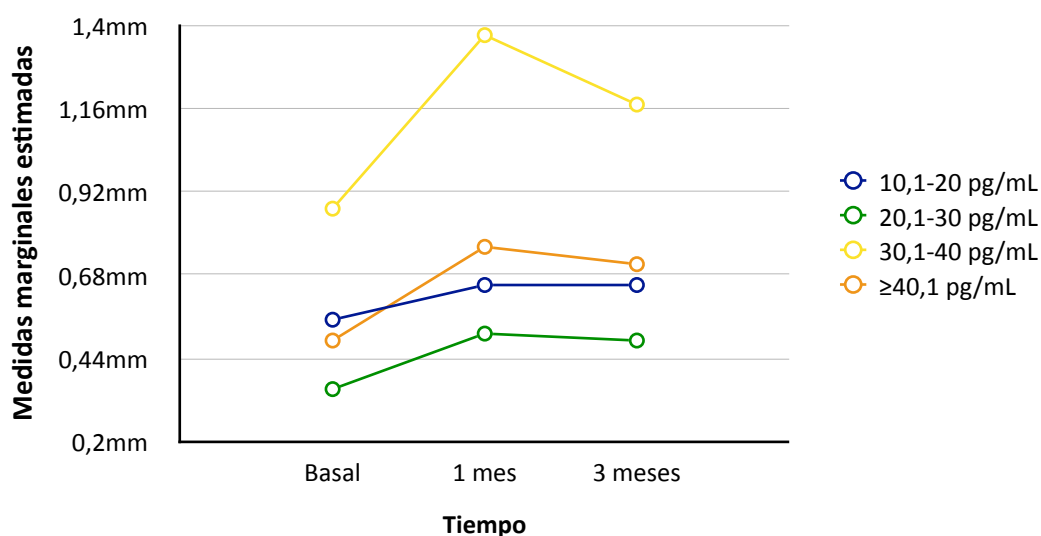


Figura 22. Evolución de la recesión gingival media correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre

Aquellas mujeres con una concentraciones de estradiol entre 10,1-20 pg/ml y 20,1-30 pg/ml no muestran reducciones de forma significativa en el valor de la recesión gingival media entre la visita basal y la re-evaluación al mes ($p=0,061$ y $p=0,466$ respectivamente) así como tampoco a los tres meses ($p=0,466$ y $p=0,899$ respectivamente).

Las concentraciones de estradiol entre 30,1-40 pg/ml así como aquellas mayores o iguales a 40 pg/ml muestran un aumento en el valor de la recesión gingival estadísticamente significativo ($p=0,013$ y $p=0,038$ respectivamente) entre la visita basal y la re-evaluación al mes. Ambas concentraciones tienden a mostrar una reducción en el valor de la recesión a los tres meses, siendo mas acusado en las concentraciones entre 30,1-40pg/ml, pero sin alcanzar diferencias significativas en ninguno de los casos ($p=0,567$ y $p=0,151$ respectivamente).

	Basal	1 mes	3 meses
10,1-20 pg/mL	0,55±0,47	0,65±0,53	0,65±0,41
		$p=0,061^a$	$p=0,466^a$
20,1-30 pg/mL	0,35±0,35	0,51±0,37	0,49±0,29
		$p=0,085^a$	$p=0,899^a$
30,1-40 pg/mL	0,87±0,27	1,37±0,59	1,17±0,42
		$p=0,013^a$	$p=0,567^a$
≥40,1 pg/mL	0,49±0,25	0,76±0,57	0,71±0,46
		$p=0,038^a$	$p=0,151^a$

Tabla 32. Evolución de la recesión gingival correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio para cada concentración de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

3.4.- PROFUNDIDAD DE SONDAJE

En la visita basal, el valor de profundidad de sondaje medio fue de $3,91 \pm 0,59$ mm en la cohorte ES y de $3,79 \pm 0,52$ mm en la cohorte ED. En la visita de re-evaluación al mes, el valor de profundidad de sondaje medio fue de $2,81 \pm 0,41$ mm en la cohorte ES y de $2,81 \pm 0,33$ mm en la cohorte ED; mientras que el visita de re-evaluación a los tres meses, el valor de profundidad de sondaje medio fue de $2,80 \pm 0,43$ mm en la cohorte ES y de $3,03 \pm 0,36$ mm en la cohorte ED.

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,190$) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto a la profundidad de sondaje media en boca a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) en la profundidad de sondaje medio a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación. No existe una reducción significativa ($p=0,087$) en la profundidad de sondaje entre la re-evaluación al mes y a los tres meses.

No existen diferencias significativas al 95% ($p=0,828$) entre la cohorte ES y la cohorte ED en la profundidad de sondaje media.

La cohorte ES muestra una reducción estadísticamente significativa ($p<0,001$) entre la visita basal y la re-evaluación al mes con una tendencia al mantenimiento de los resultados obtenidos mostrando un ligero descenso a los tres meses sin alcanzar diferencias significativas ($p=0,092$). La cohorte ED presenta una reducción en la profundidad de sondaje de forma significativa ($p<0,001$) tendiendo a aumentar con el tiempo de forma estadísticamente significativa ($p=0,007$).

	Basal	1 mes	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	$3,91 \pm 0,59$	$2,81 \pm 0,41$	$2,80 \pm 0,43$
Cohorte Estrógeno Deficiente	$3,79 \pm 0,52$	$2,81 \pm 0,33$	$3,03 \pm 0,36$
		$p < 0,001$	$p = 0,087$

Tabla 33. Evolución de la profundidad de sondaje correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio entre cohortes

^aTest ANOVA de repeticiones

	Basal	1 mes	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	3,91 ± 0,59	2,81 ± 0,41	2,80 ± 0,43
		$p < 0,001^a$	$p = 0,938^a$
Cohorte Estrógeno Deficiente	3,79 ± 0,52	2,81 ± 0,33	3,03 ± 0,36
		$p < 0,001^a$	$p = 0,007^a$

Tabla 34. Evolución de la profundidad de sondaje correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio intra cohortes

^aTest ANOVA de repeticiones

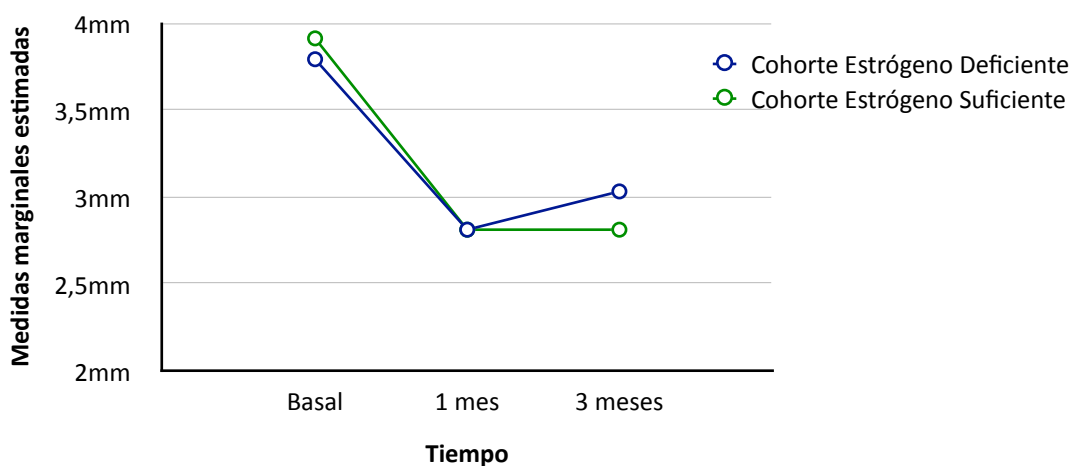


Figura 23. Evolución de la profundidad de sondaje correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio

En la visita basal se detectaron 8 mujeres de la cohorte estrógeno deficiente (53,3%) con una profundidad de sondaje media $\leq 4\text{mm}$, mientras que el 46,7% de la cohorte presentaron una profundidad de sondaje media entre 4-6mm. Por el contrario, la cohorte estrógeno suficiente presente un 63,6% de las localizaciones con una profundidad de sondaje media $<4\text{mm}$ y un 36,4% con profundidad de sondaje media entre 4-6mm. Ninguna de las cohortes presente una profundidad media $\geq 6\text{mm}$. No existen diferencias significativas al 95% (chi-cuadrado de Pearson 0,599) entre ambas cohortes en profundidad de sondaje media al categorizar.

		Profundidad de Sondaje Basal			Total
		<4mm	4-6mm	>6mm	
Cohorte Estrógeno Deficientes	Recuento	8	7	0	15
	% dentro de grupo	53,3%	46,7%	0,0%	100,0%
	Residuo corregido	-0,5	0,5		
Cohorte Estrógeno Suficientes	Recuento	7	4	0	11
	% dentro de grupo	63,6%	36,4%	0,0%	100,0%
	Residuo corregido	-0,5	0,5		
Recuento		15	11	0	26
% dentro de grupo		57,7%	42,3%	0,0%	100,0%

Tabla 35. Categorización de la profundidad de sondaje media en la visita basal

Diferencias entre localizaciones anteriores y posteriores

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,180$ para localizaciones anteriores y, G-G $p=0,201$ para localizaciones posteriores) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto a la profundidad de sondaje en base a localizaciones a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$ para ambas localizaciones) de la profundidad de sondaje a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación.

No existen diferencias significativas al 95% ($p=0,489$ para localizaciones anteriores y $p=0,213$ para localizaciones posteriores) entre la cohorte ES y la cohorte ED en profundidad de sondaje.

		Basal	1 mes	3 meses
Localización Anterior	Cohorte Estrógeno Suficiente	3,65 ± 0,65	2,61 ± 0,64	2,69 ± 0,48
	Cohorte Estrógeno Deficiente	3,33 ± 0,60	2,51 ± 0,43	2,70 ± 0,43
			$p < 0,001$	$p = 0,069$
Localización Posterior	Cohorte Estrógeno Suficiente	4,14 ± 0,61	2,98 ± 0,33	2,90 ± 0,45
	Cohorte Estrógeno Deficiente	4,16 ± 0,59	3,07 ± 0,30	3,30 ± 0,37
			$p < 0,001^a$	$p = 0,162^a$

Tabla 36. Evolución de la profundidad de sondaje media en base a localizaciones a lo largo del estudio

^aTest ANOVA de repeticiones

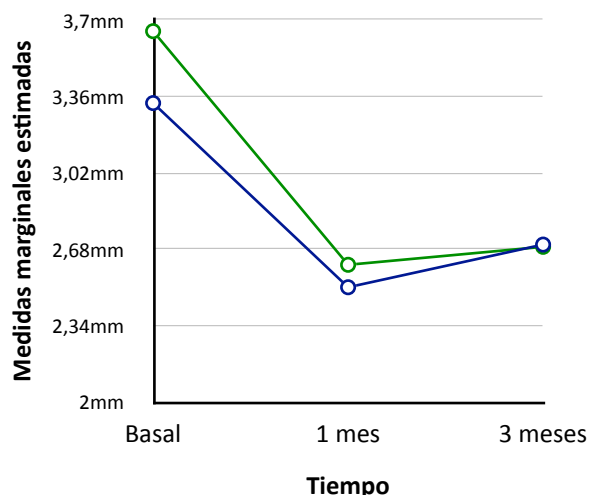


Figura 24. Evolución de la profundidad de sondaje en localizaciones anteriores a lo largo del estudio

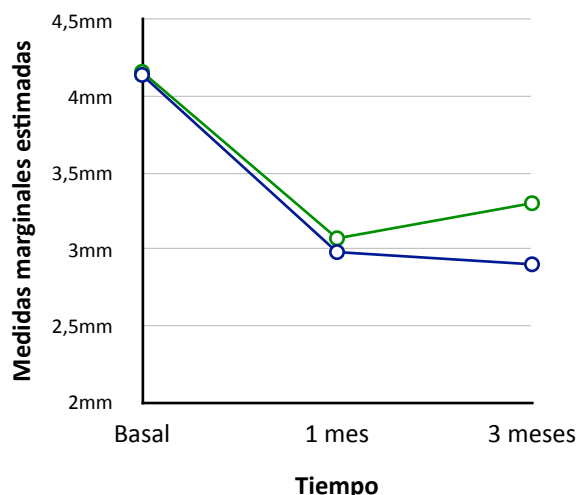


Figura 25. Evolución de la profundidad de sondaje en localizaciones posteriores a lo largo del estudio

Diferencias entre localizaciones interproximales y libres

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,237$ para localizaciones interproximales y, G-G $p=0,085$ para localizaciones libres) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto a la profundidad de sondaje en base a localizaciones a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$ para ambas localizaciones) de la profundidad de sondaje a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación.

No existen diferencias significativas al 95% ($p=0,857$ para localizaciones interproximales y $p=0,818$ para localizaciones libres) entre la cohorte ES y la cohorte ED en la profundidad de sondaje.

		Basal	1 mes	3 meses
Localización Interproximal	Cohorte Estrógeno Suficiente	$4,39 \pm 0,66$	$3,16 \pm 0,49$	$3,12 \pm 0,44$
	Cohorte Estrógeno Deficiente	$4,29 \pm 0,65$	$3,11 \pm 0,41$	$3,36 \pm 0,42$
			$p < 0,001$	$p = 0,104$
Localización Libre	Cohorte Estrógeno Suficiente	$2,95 \pm 0,55$	$2,13 \pm 0,32$	$2,18 \pm 0,43$
	Cohorte Estrógeno Deficiente	$2,76 \pm 0,42$	$2,22 \pm 0,28$	$2,36 \pm 0,33$
			$p < 0,001^a$	$p = 0,101^a$

Tabla 37. Evolución de la profundidad de sondaje en base a localizaciones a lo largo del estudio

^aTest ANOVA de repeticiones

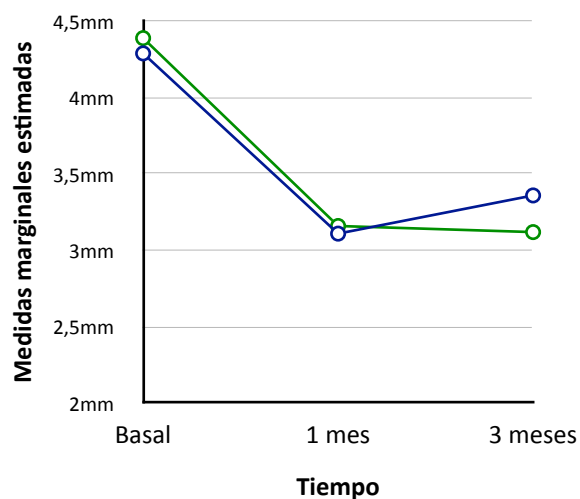


Figura 26. Evolución de la profundidad de sondaje en localizaciones interproximales a lo largo del estudio

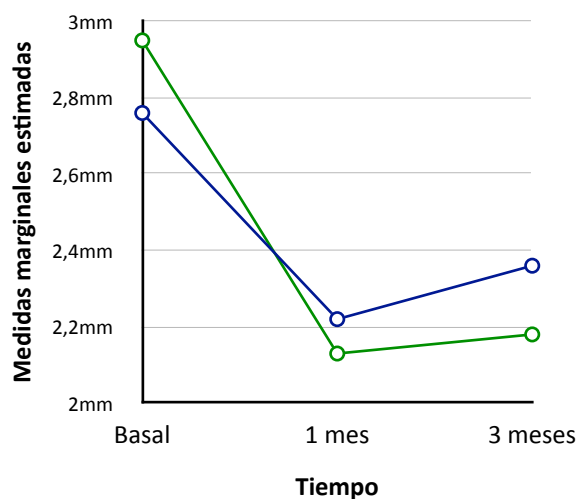


Figura 27. Evolución de la profundidad de sondaje en localizaciones libres a lo largo del estudio

Diferencias en función de las concentraciones de estradiol

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,513$) en el comportamiento de la profundidad de sondaje media en boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) de la profundidad de sondaje media a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación. Los valores se mantienen en el tiempo entre la re-evaluación al mes y a los 3 meses (G-G $p=0,111$).

No existen diferencias significativas al 95% ($p=0,213$) en función de las diferentes concentraciones de estradiol en sangre respecto de la profundidad de sondaje media.

	Basal	1 mes	3 meses
10,1-20 pg/mL	3,66±0,45	2,72±0,18	2,92±0,14
20,1-30 pg/mL	4,04±0,60	3,00±0,49	3,23±0,57
30,1-40 pg/mL	4,16±0,79	2,95±0,28	2,87±0,49
≥40,1 pg/mL	3,70±0,30	2,71±0,50	2,76±0,39
		$p<0,001^a$	$p=0,111^a$

Tabla 38. Evolución de la profundidad de sondaje media correspondiente a toda la boca a lo largo del entre las diferentes concentraciones de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

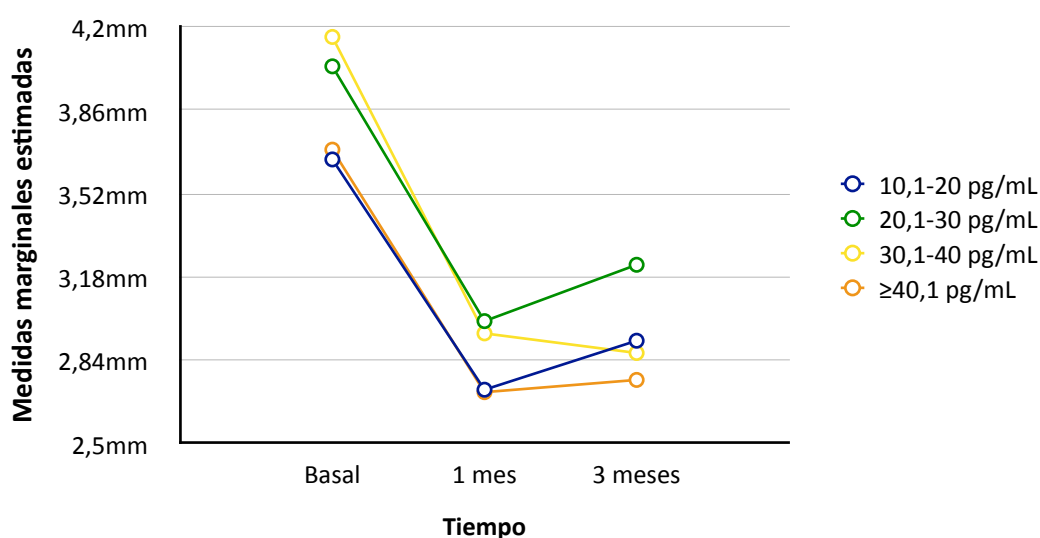


Figura 28. Evolución de la profundidad de sondaje media correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre

Aquellas mujeres con una concentraciones de estradiol entre 10,1-20 pg/ml y 20,1-30 pg/ml muestran reducciones estadísticamente significativas en la profundidad de sondaje entre la visita basal y la re-evaluación al mes ($p=0,006$ y $p<0,001$ respectivamente) mostrando un incremento en dicho valor con el tiempo de forma significativa para concentraciones ente 20,1-30pg/ml ($p=0,045$).

Las concentraciones de estradiol entre 30,1-40 pg/ml así como aquellas mayores o iguales a 40 pg/ml muestran una reducción en la profundidad de sondaje estadísticamente significativa ($p=0,014$ y $p=0,007$ respectivamente) entre la visita basal y la re-evaluación al mes. Ambas concentraciones tienden a mostrar una reducción en dicho valor a los tres meses, siendo mas acusado en las concentraciones entre 30,1-40pg/ml, pero sin alcanzar diferencias significativas en ninguno de los casos ($p=0,103$ y $p=0,702$ respectivamente).

	Basal	1 mes	3 meses
10,1-20 pg/mL	3,66±0,45	2,72±0,18	2,92±0,14
		$p=0,006^a$	$p=0,091^a$
20,1-30 pg/mL	4,04±0,60	3,00±0,49	3,23±0,57
		$p<0,001^a$	$p=0,045^a$
30,1-40 pg/mL	4,16±0,79	2,95±0,28	2,87±0,49
		$p=0,014^a$	$p=0,103^a$
≥40,1 pg/mL	3,70±0,30	2,71±0,50	2,76±0,39
		$p=0,007^a$	$p=0,702^a$

Tabla 39. Evolución de la profundidad de sondaje correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio para cada concentración de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

3.5.- NIVEL DE INSERCIÓN CLÍNICO

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,230$) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto a la pérdida de inserción clínica a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) de la pérdida de inserción clínica a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación.

No existen diferencias significativas al 95% (t-student $p=0,366$ y, U de Mann-Whitney $p=0,259$) respecto al nivel de inserción clínico entre ambas cohortes en la visita basal. Tampoco existen diferencias significativas al 95% entre ambas cohortes en la visita de re-evaluación al mes (t-student $p=0,116$ y, U de Mann-Whitney $p=0,164$) así como tampoco en la visita de re-evaluación a los 3 meses (t-student $p=0,665$ y, U de Mann-Whitney $p=0,507$).

No existen diferencias significativas al 95% ($p=0,281$) entre la cohorte ES y la cohorte ED en la pérdida de inserción media.

	Basal	1 mes	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	$4,57 \pm 0,82$	$3,86 \pm 0,74$	$3,73 \pm 0,53$
Cohorte Estrógeno Deficiente	$4,27 \pm 0,84$	$3,42 \pm 0,61$	$3,63 \pm 0,59$
		$p < 0,001$	$p = 0,592$

Tabla 40. Evolución del nivel de inserción clínico medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio

^aTest ANOVA de repeticiones

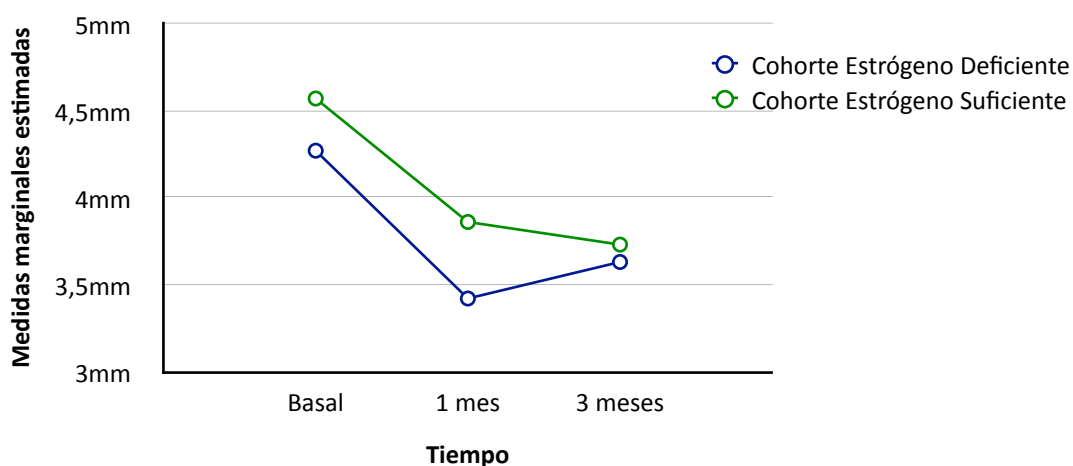


Figura 29. Evolución del nivel de inserción clínico medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio

Diferencias en función de las concentraciones de estradiol

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,342$) en el comportamiento del nivel de inserción clínico medio en boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) del nivel de inserción clínico medio a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y al mes de la re-evaluación. Los valores se mantienen en el tiempo entre la re-evaluación al mes y a los 3 meses (G-G $p=0,380$).

No existen diferencias significativas al 95% ($p=0,125$) en función de las diferentes concentraciones de estradiol en sangre respecto del nivel de inserción clínico medio.

	Basal	1 mes	3 meses
10,1-20 pg/mL	4,21±0,85	3,37±0,57	3,58±0,47
20,1-30 pg/mL	4,40±0,91	3,52±0,75	3,72±0,83
30,1-40 pg/mL	5,03±0,94	4,32±0,75	4,04±0,47
≥40,1 pg/mL	4,19±0,41	3,47±0,50	3,47±0,46
		$p<0,001^a$	$p=0,380^a$

Tabla 41. Evolución del nivel de inserción clínico medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio entre las diferentes concentraciones de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

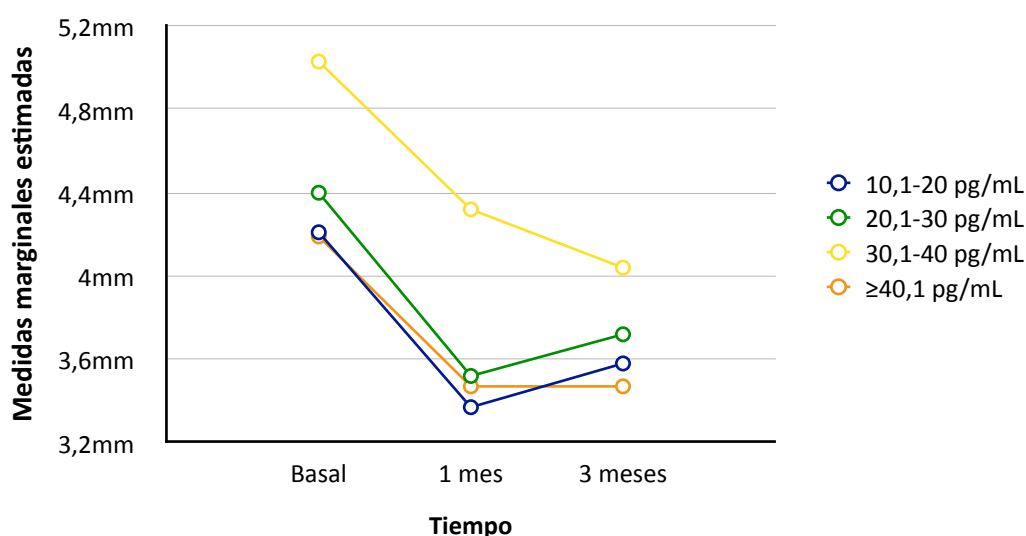


Figura 30. Evolución del nivel de inserción clínico medio correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre

Todas las concentraciones muestran una ganancia en el nivel de inserción clínico de forma estadísticamente significativa entre la visita basal y la re-evaluación al mes, sin embargo aquellas concentraciones iguales o mayores a 40pg/ml no muestran ganancia tras el tratamiento periodontal de forma significativa ($p=0,051$).

Aquellas mujeres con una concentraciones de estradiol entre 10,1-20 pg/ml y 20,1-30 pg/ml muestran pérdida en el nivel de inserción clínico a los tres meses sin alcanzar diferencias significativas ($p=0,996$ y $p=0,166$ respectivamente).

Las concentraciones de estradiol entre 30,1-40 pg/ml así como aquellas mayores o iguales a 40 pg/ml muestran una ganancia añadida en el nivel de inserción clínico a los tres meses sin alcanzar diferencias significativas ($p=0,062$ y $p=0,381$ respectivamente) siendo más acusada dicha ganancia en concentraciones entre 30,1-40pg/ml.

	Basal	1 mes	3 meses
10,1-20 pg/mL	4,21±0,85	3,37±0,57	3,58±0,47
		$p=0,009^a$	$p=0,996^a$
20,1-30 pg/mL	4,40±0,91	3,52±0,75	3,72±0,83
		$p<0,001^a$	$p=0,116^a$
30,1-40 pg/mL	5,03±0,94	4,32±0,75	4,04±0,47
		$p=0,024^a$	$p=0,062^a$
≥40,1 pg/mL	4,19±0,41	3,47±0,50	3,47±0,46
		$p=0,051^a$	$p=0,381^a$

Tabla 42. Evolución del nivel de inserción clínico correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio para cada concentración de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

4.- VARIABLES INMUNOLÓGICAS

4.1.- INTERLEUQUINA 1 β (IL-1 β)

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,310$) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto a la concentración de IL-1 β media en FGC a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) de la concentración de IL-1 β media a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y la re-evaluación a los 3 meses.

Existen diferencias significativas al 95% ($p<0,001$) entre la cohorte ES y la cohorte ED en la concentración de IL-1 β media, estado mas elevada en la cohorte estrógeno deficiente.

	Basal	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	156,47 \pm 20,92	47,56 \pm 17,55
Cohorte Estrógeno Deficiente	193,52 \pm 44,56	98,93 \pm 10,69
		$p < 0,001^a$

Tabla 43. Evolución de la concentración de IL-1 β en el fluido gingival crevicular a lo largo del estudio

^aTest ANOVA de repeticiones

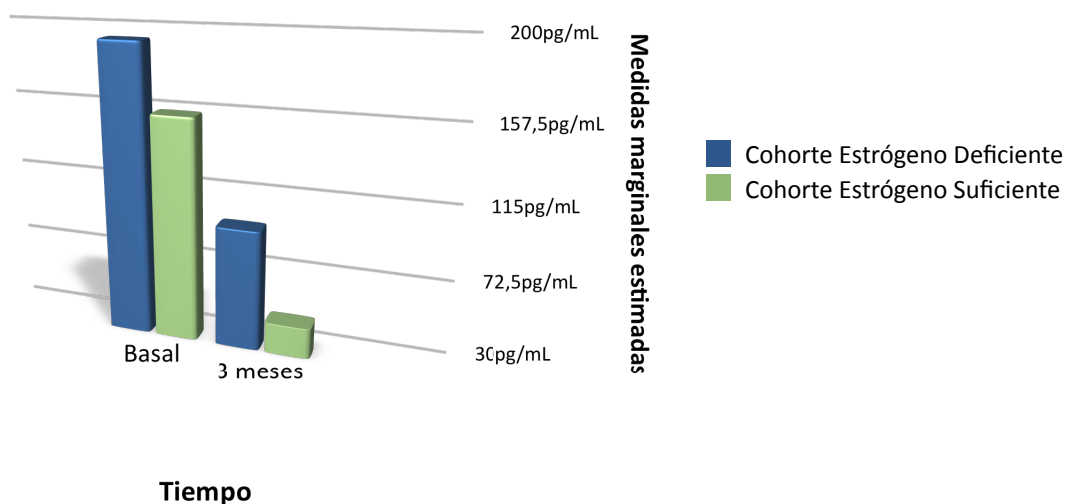


Figura 31. Evolución de la concentración de IL-1 β en el fluido gingival crevicular a lo largo del estudio

Diferencias en función de las concentraciones de estradiol

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,310$) en el comportamiento en función de la concentración de estradiol respecto a la concentración de IL-1 β media en FGC a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) de la concentración de IL-1 β media a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y la re-evaluación a los 3 meses.

Existen diferencias significativas al 95% ($p<0,001$) en función de la concentración de estradiol respecto a la concentración de IL-1 β media

	Basal	3 meses
10,1-20 pg/mL	188,49 \pm 54,47	97,94 \pm 12,38
20,1-30 pg/mL	203,58 \pm 18,09	100,92 \pm 6,94
30,1-40 pg/mL	176,84 \pm 10,88	52,52 \pm 8,76
$\geq 40,1$ pg/mL	139,50 \pm 4,54	43,43 \pm 22,58
		$p<0,001^a$

Tabla 44. Evolución de la concentración de IL-1 β en el fluido gingival crevicular correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

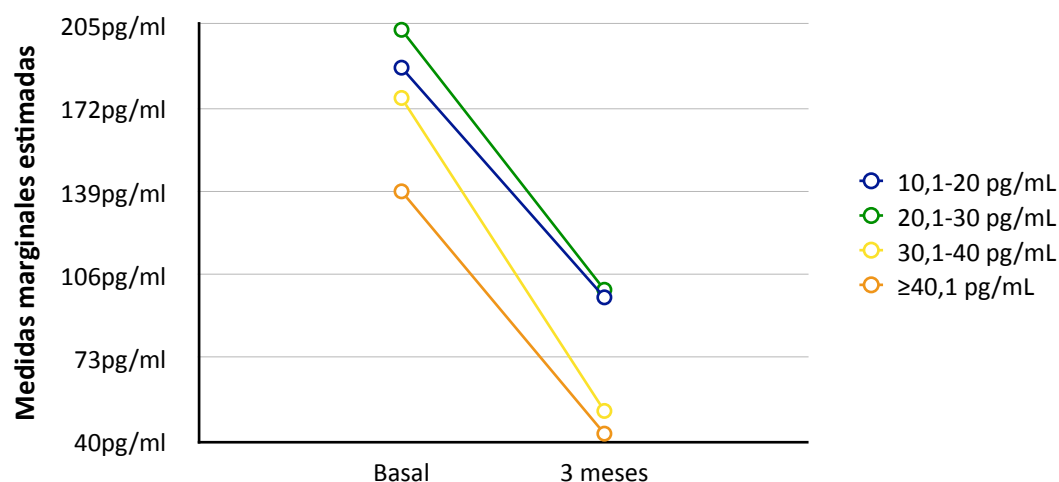


Figura 32. Evolución de la concentración de IL-1 β en el fluido gingival crevicular correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre

4.2.- INTERLEUQUINA 6 (IL-6)

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,614$) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto a la concentración de IL-6 media en FGC a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) de la concentración de IL-6 media a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y la re-evaluación a los 3 meses.

Existen diferencias significativas al 95% ($p<0,001$) entre la cohorte ES y la cohorte ED en la concentración de IL-6 media, estado mas elevada en la cohorte ED.

	Basal	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	11,12 \pm 3,71	4,39 \pm 1,68
Cohorte Estrógeno Deficiente	20,95 \pm 7,86	13,46 \pm 5,98
		$p < 0,001^a$

Tabla 45. Evolución de la concentración de IL-6 en el fluido gingival crevicular a lo largo del estudio

^aTest ANOVA de repeticiones

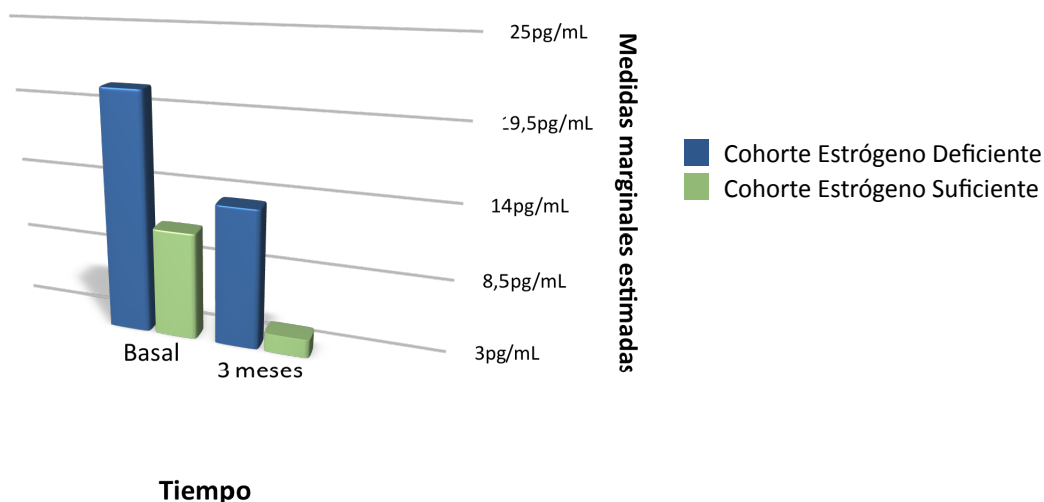


Figura 33. Evolución de la concentración de IL-6 en el fluido gingival crevicular a lo largo del estudio

Diferencias en función de las concentraciones de estradiol

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,200$) en el comportamiento en función de la concentración de estradiol respecto a la concentración de IL-6 media en FGC a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) de la concentración de IL-6 media en FGC a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y la re-evaluación a los 3 meses.

Existen diferencias significativas al 95% ($p<0,001$) en función de la concentración de estradiol respecto a la concentración de IL-16 media en FGC.

	Basal	3 meses
10,1-20 pg/mL	21,34±7,82	13,36±6,32
20,1-30 pg/mL	20,18±8,79	13,66±5,93
30,1-40 pg/mL	14,82±1,18	5,70±0,33
≥40,1 pg/mL	8,05±1,23	3,30±1,55
		$p<0,001^a$

Tabla 46. Evolución de la concentración de IL-6 en el fluido gingival crevicular correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

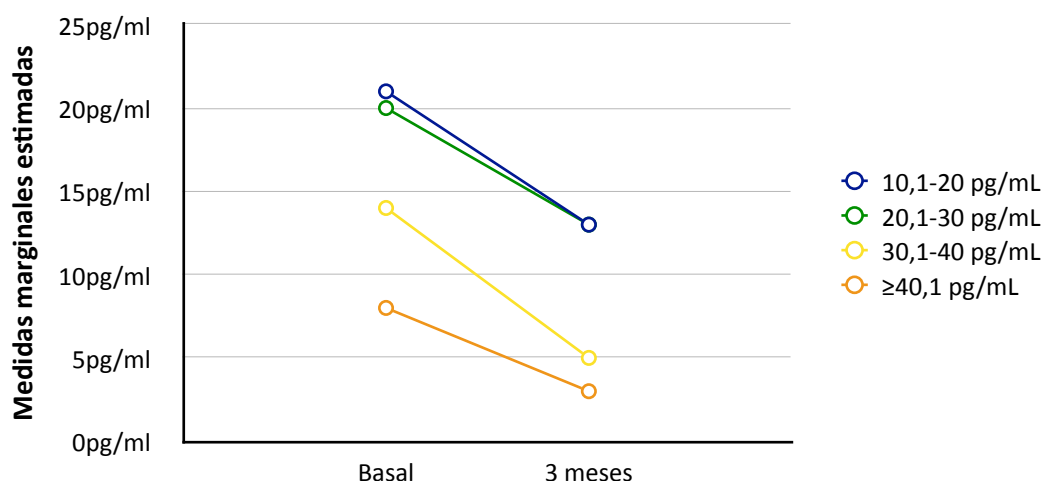


Figura 34. Evolución de la concentración de IL-6 en el fluido gingival crevicular correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre

4.3.- INTERLEUQUINA 17 (IL-17)

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,659$) en el comportamiento de las cohortes ED y ES respecto a la concentración de IL-17 media en boca a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) de la concentración de IL-17 media a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y a la re-evaluación a los 3 meses.

Existen diferencias significativas al 95% ($p<0,001$) entre la cohorte ES y la cohorte ED en la concentración de IL-6 media, estado mas elevada en la cohorte ED.

	Basal	3 meses
Cohorte Estrógeno Suficiente	2,50 ± 0,55	0,80 ± 0,23
Cohorte Estrógeno Deficiente	3,61 ± 0,86	1,77 ± 0,69
		$p < 0,001^a$

Tabla 47. Evolución de la concentración de IL-17 en el fluido gingival crevicular a lo largo del estudio

^aTest ANOVA de repeticiones

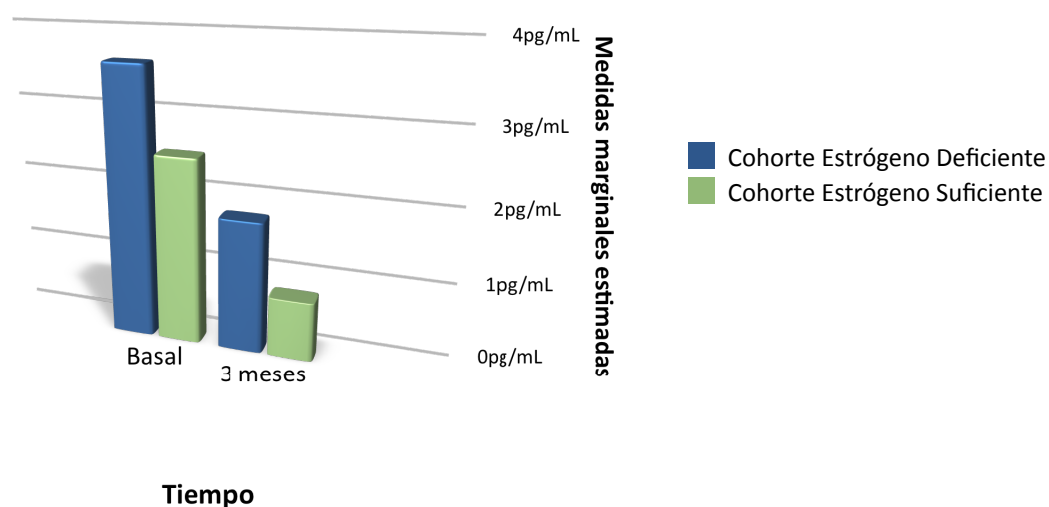


Figura 35. Evolución de la concentración de IL-17 en el fluido gingival crevicular a lo largo del estudio

Diferencias en función de las concentraciones de estradiol

No existen diferencias significativas al 95% (G-G $p=0,596$) en el comportamiento en función de la concentración de estradiol respecto a la concentración de IL-17 media en FGC a lo largo del estudio.

Existe una evolución significativa al 95% (G-G $p<0,001$) de la concentración de IL-17 media en FGC a lo largo del estudio, existiendo una reducción significativa entre la visita basal y la re-evaluación a los 3 meses.

Existen diferencias significativas al 95% ($p<0,001$) en función de la concentración de estradiol respecto a la concentración de IL-17 media en FGC.

	Basal	3 meses
10,1-20 pg/mL	3,79±0,95	1,76±0,84
20,1-30 pg/mL	3,26±0,58	1,80±0,29
30,1-40 pg/mL	2,72±0,66	1,00±0,17
≥40,1 pg/mL	2,31±0,42	0,63±0,10
		$p<0,001^a$

Tabla 48. Evolución de la concentración de IL-17 en el fluido gingival crevicular correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre

^aTest ANOVA de repeticiones

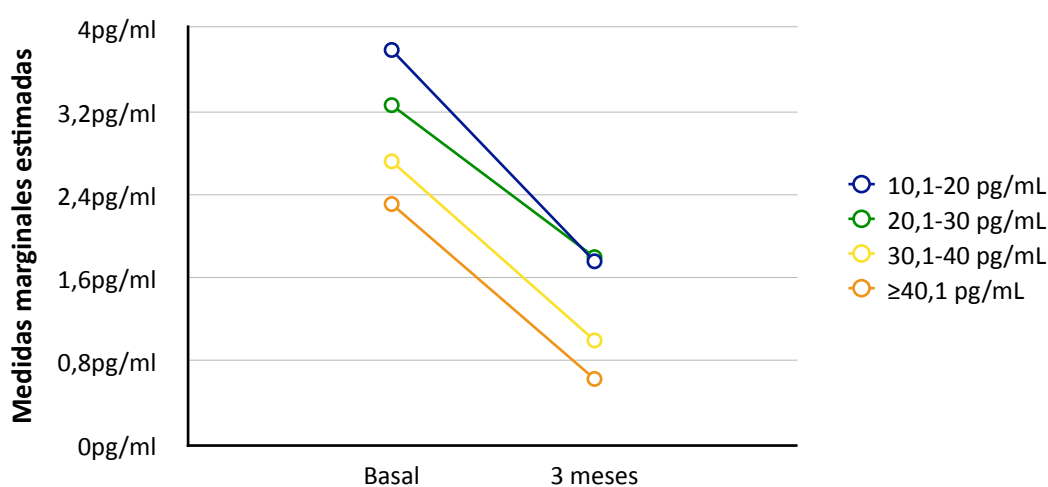


Figura 36. Evolución de la concentración de IL-17 en el fluido gingival crevicular correspondiente a toda la boca a lo largo del estudio en función de la concentración de estradiol en sangre

5.- CORRELACIONES

5.1.- CORRELACIONES ENTRE VARIABLES INMUNOLÓGICAS Y VARIABLES CLÍNICAS

5.1.1.- Correlaciones entre variables considerando el total de la muestra

La Tabla 37 muestra las correlaciones existentes entre las variables inmunológicas con el índice de placa medio. El incremento experimentado en las variables inmunológicas no está correlacionado de forma estadísticamente significativa con el incremento en los valores del índice de placa.

	IP Basal	IP Re-evaluación al mes	IP Re-evaluación a los 3 meses	IG Basal	IG Re-evaluación al mes	IG Re-evaluación a los 3 meses
IL-1β Basal	0,085	0,065	0,171	0,441*	0,227	0,269
IL-6 Basal	0,110	0,001	0,124	0,364*	0,069	0,050
IL-17 Basal	0,022	0,138	0,353	0,484*	0,141	0,206
IL-1β Re-evaluación a los 3 meses	0,206	0,100	0,154	0,200	0,128	0,045
IL-6 Re-evaluación a los 3 meses	0,154	0,071	0,170	0,244	0,009	0,080
IL-17 Re-evaluación a los 3 meses	0,086	0,076	0,372	0,212	0,012	0,384

Tabla 49. Correlaciones entre las variables inmunológicas con el índice de placa y el índice gingival medios

IP, índice de placa; IG, índice gingival; IL-1β, interleuquina 1β; IL-6, interleuquina 6; IL-17, interleuquina 17

Test de Correlación de Pearson ; *p<0,05

La Tabla 49 muestra las correlaciones existentes entre las variables inmunológicas con el índice gingival medio. Existe correlación estadísticamente significativa entre el incremento en las concentraciones de IL-1β, IL-6 e IL-17 con respecto al índice gingival en la visita basal ($r=0,441$; $r=0,364$; $r=0,484$). Los cambios experimentados en los valores del índice gingival a lo largo del estudio no están correlacionados de forma estadísticamente significativa con los cambios en las concentraciones de interleuquinas.

La Tabla 50 describe las correlaciones existentes entre las variables inmunológicas con respecto a la recesión gingival. Existe correlación estadísticamente significativa entre el descenso en la concentración de IL-1β con el aumento de la recesión gingival en la visita de re-evaluación al mes ($r=-0,337$) y en la re-evaluación a los 3 meses ($r=-0,311$).

	REC Basal	REC Re-evaluación al mes	REC Re-evaluación a los 3 meses	PS Basal	PS Re-evaluación al mes	PS Re-evaluación a los 3 meses	NIC Basal	NIC Re-evaluación al mes	NIC Re-evaluación a los 3 meses
IL-1 β Basal	0,036	0,088	0,043	0,187	0,021	0,197	0,051	0,225	0,112
IL-6 Basal	0,171	0,230	0,209	0,116	0,021	0,099	0,083	0,184	0,194
IL-17 Basal	0,012	0,111	0,101	0,136	0,063	0,101	0,036	0,060	0,140
IL-1 β Re-evaluación a los 3 meses	0,218	-0,337*	-0,311*	0,118	0,047	0,278	0,071	0,165	0,167
IL-6 Re-evaluación a los 3 meses	0,197	0,241	0,193	0,156	0,069	0,135	0,136	0,339	0,105
IL-17 Re-evaluación a los 3 meses	0,065	0,031	0,045	0,147	0,015	0,226	0,106	0,258	0,086

Tabla 50. Correlaciones entre las variables inmunológicas con REC PS, NIC medio

REC, recesión gingival; PS, profundidad de sondaje; NIC, nivel de inserción clínico; IL-1 β , interleuquina 1 β ; IL-6, interleuquina 6;

IL-17, interleuquina 17

Test de Correlación de Pearson; *p<0,05

La Tabla 50 también describe las correlaciones existentes entre las variables inmunológicas con la profundidad de sondaje y el nivel de inserción clínico. No existen correlaciones de forma significativa entre las variables inmunológicas y los valores de la profundidad de sondaje a lo largo del estudio. Respecto al nivel de inserción clínico, existe una correlación de forma estadísticamente significativa entre el descenso en la concertación de interleuquina 6 en la visita de re-evaluación al mes y la disminución en la pérdida de inserción clínica ($r=0,339$).

5.1.2.- Correlaciones entre variables considerando cada cohorte

La tabla 51 nos muestra las correlaciones existentes en función de cada cohorte, así pues tenemos que la cohorte ED presenta una correlación positiva estadísticamente positiva entre las variables el aumento en las concentraciones de IL-1 β , IL-6 e IL-17 y el aumento de sangrado en la visita basal ($r=0,700$; $r=0,640$ y $r=0,494$ respectivamente). También se han encontrado correlaciones positivas de forma significativa entre las concentraciones elevadas de IL-1 β e IL-6 con el mayor pérdida de inserción clínica ($r=0,467$ y $r=0,580$ respectivamente).

La cohorte ES donde se aprecia una correlación positiva entre el aumento de las concentraciones en las IL-1 β e IL-6 y el sangrado en la visita al mes de forma estadísticamente significativa ($r=0,372$ y $r=0,337$ respectivamente). Se encuentra una correlación positiva entre el descenso en la concentración de IL-17 en la visita de re-evaluación al mes y la disminución de sangrado ($r=0,520$).

	IP Basal	IP Re-evaluación al mes	IP Re-evaluación a los 3 meses	IG Basal	IG Re-evaluación al mes	IG Re-evaluación a los 3 meses
IL-1β Basal	-0,045	0,385	0,362	0,700*	0,190	0,290
IL-6 Basal	-0,022	0,309	0,315	0,640*	0,350	0,199
IL-17 Basal	0,017	0,567*	0,678*	0,494	0,353	0,293
IL-1β Re-evaluación a los 3 meses	-0,401	0,172	-0,023	-0,434	0,352	-0,248
IL-6 Re-evaluación a los 3 meses	-0,313	0,179	0,234	-0,426	0,624	0,340
IL-17 Re-evaluación a los 3 meses	0,251	0,359	0,402	-0,131	0,447	0,226

Tabla 51. Correlaciones entre las variables inmunológicas con el índice de placa y el índice gingival medios en la cohorte estrógeno deficiente

IP, índice de placa; IG, índice gingival; IL-1 β , interleuquina 1 β ; IL-6, interleuquina 6; IL-17, interleuquina 17

Test de Correlación de Pearson; *p<0,05

	REC Basal	REC Re-evaluación al mes	REC Re-evaluación a los 3 meses	PS Basal	PS Re-evaluación al mes	PS Re-evaluación a los 3 meses	NIC Basal	NIC Re-evaluación al mes	NIC Re-evaluación a los 3 meses
IL-1β Basal	0,510	0,397	0,410	0,270	0,305	0,099	0,467*	0,296	0,328
IL-6 Basal	0,553	0,440	0,428	0,373	0,334	0,167	0,580*	0,391	0,395
IL-17 Basal	0,421	0,305	0,413	-0,082	0,223	0,244	0,153	0,440	0,475
IL-1β Re-evaluación a los 3 meses	0,140	0,109	0,154	-0,034	0,091	0,034	0,126	0,443	0,485
IL-6 Re-evaluación a los 3 meses	0,688*	0,608*	0,724*	0,067	0,150	0,043	0,423	0,452	0,471
IL-17 Re-evaluación a los 3 meses	0,489	0,320	0,278	0,399	0,078	0,152	0,461	0,000	0,143

Tabla 52. Correlaciones entre las variables inmunológicas con REC, PS y NIC en la cohorte estrógeno deficiente

REC, recesión gingival; PS, profundidad de sondaje; NIC, nivel de inserción clínico; IL-1 β , interleuquina 1 β ; IL-6, interleuquina 6;

IL-17, interleuquina 17

Test de Correlación de Pearson; *p<0,05

	IP Basal	IP Re-evaluación al mes	IP Re-evaluación a los 3 meses	IG Basal	IG Re-evaluación al mes	IG Re-evaluación a los 3 meses
IL-1β Basal	0,185	0,026	0,021	0,168	0,372*	0,185
IL-6 Basal	-0,092	0,011	-0,087	-0,103	0,279	0,337*
IL-17 Basal	0,028	0,101	0,168	-0,149	0,045	-0,048
IL-1β Re-evaluación a los 3 meses	-0,243	-0,248	-0,166	-0,520*	0,156	-0,365
IL-6 Re-evaluación a los 3 meses	-0,122	-0,011	-0,007	-0,055	0,311	-0,158
IL-17 Re-evaluación a los 3 meses	0,167	-0,116	0,303	0,225	0,310	0,382

Tabla 53. Correlaciones entre las variables inmunológicas con el índice de placa y el índice gingival medios en la cohorte estrógeno suficiente

IP, índice de placa; IG, índice gingival; IL-1 β , interleuquina 1 β ; IL-6, interleuquina 6; IL-17, interleuquina 17

Test de Correlación de Pearson; *p<0,05

	REC Basal	REC Re-evaluación al mes	REC Re-evaluación a los 3 meses	PS Basal	PS Re-evaluación al mes	PS Re-evaluación a los 3 meses	NIC Basal	NIC Re-evaluación al mes	NIC Re-evaluación a los 3 meses
IL-1β Basal	-0,024	-0,002	0,056	0,307	-0,90	0,083	-0,025	-0,200	0,027
IL-6 Basal	-0,188	-0,184	-0,164	-0,233	-0,181	-0,211	-0,280	-0,075	0,164
IL-17 Basal	0,076	0,090	0,015	-0,092	0,004	-0,273	-0,048	0,098	-0,028
IL-1β Re-evaluación a los 3 meses	-0,189	-0,174	-0,207	-0,045	0,125	0,126	-0,145	0,197	-0,007
IL-6 Re-evaluación a los 3 meses	-0,147	-0,095	-0,053	-0,174	-0,182	-0,139	-0,247	-0,274	0,040
IL-17 Re-evaluación a los 3 meses	0,287	0,410	0,348	0,330	-0,052	0,038	0,194	-0,049	0,070

Tabla 54. Correlaciones entre las variables inmunológicas con REC, PS y NIC en la cohorte estrógeno suficiente

REC, recesión gingival; PS, profundidad de sondaje; NIC, nivel de inserción clínico; IL-1 β , interleuquina 1 β ; IL-6, interleuquina 6;

IL-17, interleuquina 17

Test de Correlación de Pearson; *p<0,05

5.2.- ODD RATIO (OR)

Aquellas mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes presentaron un $OR=0,65$ (IC 95%, 1,13-3,21) para desarrollar localizaciones con una profundidad de sondaje $\geq 4\text{mm}$ en la visita basal. Así mismo, presentaron un $OR=3,04$ (IC 95%, 1,57-4,19) para presentar una pérdida de inserción $\geq 4\text{mm}$.

Aquellas mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes presentaron un $OR=0,750$ (IC 95%, 1,16-4,13) para desarrollar localizaciones con una profundidad de sondaje $\geq 4\text{mm}$ en la visita de re-evaluación a los 3 meses. Así mismo, presentaron un $OR=1,57$ (IC 95%, 1,29-6,42) para desarrollar pérdida de inserción $\geq 4\text{mm}$ a los 3 meses.

5.3.- ANÁLISIS CHAID EXHAUSTIVO

Para determinar el grado de influencia de la variable clínica principal, nivel de inserción clínica, se desarrolló un árbol de clasificación analizando la influencia de las diferentes variables independientes estudiadas.

El análisis del árbol de clasificación determinó que la medida que segmentada de forma estadísticamente significativa (chi-cuadrado $p<0,001$) el nivel de inserción clínico en la visita basal fue el valor de la recesión gingival media. Así, cuando el valor de la recesión gingival era menor o igual a $0,74\text{mm}$, disminuía la probabilidad de presentar un nivel de inserción clínico mayor o igual a 3mm (0% respecto de un 23,1% inicial); por el contrario, cuando el valor de la recesión gingival era mayor de $0,74\text{mm}$ la probabilidad de desarrollar un nivel de inserción clínico mayor de 3mm fue del 75% (figura 35).

Se desarrolló del mismo modo otro árbol de clasificación para determinar la medida que segmentada de forma estadísticamente significativa (chi-cuadrado $p=0,007$) el nivel de inserción clínico en la visita de re-evaluación a los 3 meses. Se estableció que en función del estado civil podíamos decir que todas aquellas mujeres que se encontraban casadas o viviendo en parejas disminuían la probabilidad de desarrollar un nivel de inserción clínico mayor o igual a 3mm (pasando del 0% al 3,8% inicial), mientras que aquellas que estaban separadas aumentaban dicha probabilidad (25% respecto del 3,8% inicial) (Figura 36).

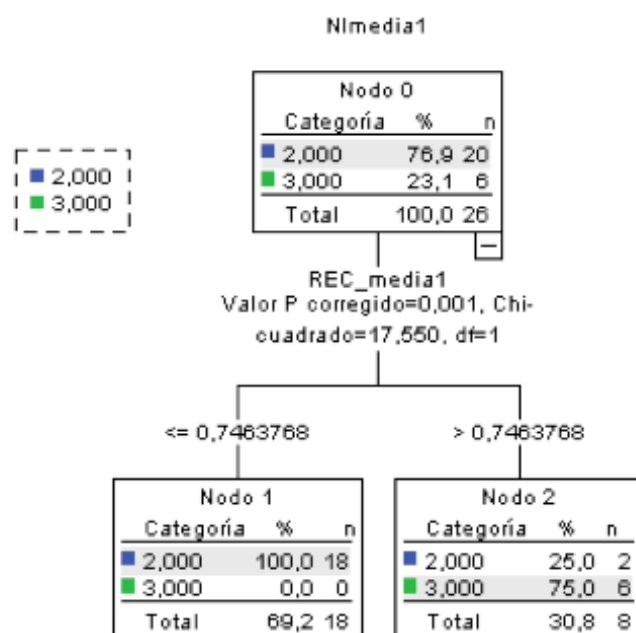


Figura 37. Análisis CHAID exhaustivo: desarrollo de nivel de inserción clínico

NI, nivel de inserción clínico; REC, recesión gingival

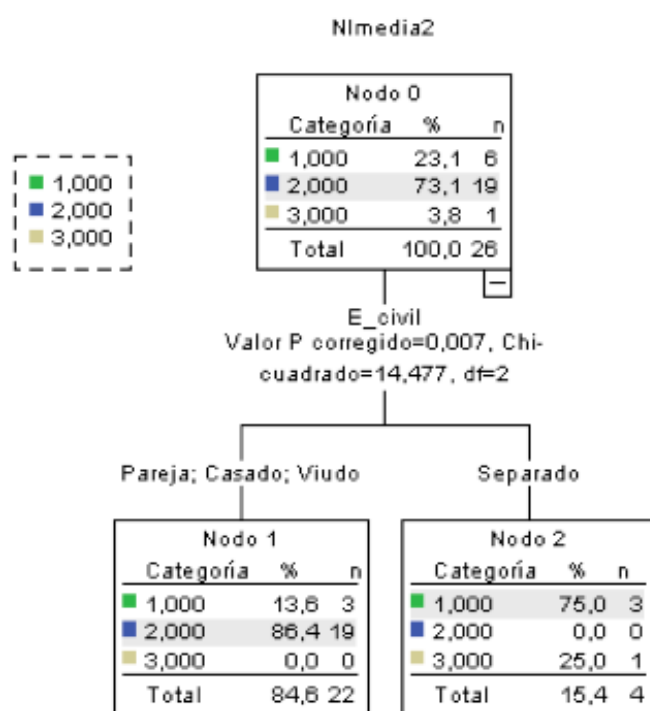


Figura 38. Análisis CHAID exhaustivo: desarrollo de nivel de inserción clínico

NI, nivel de inserción clínico; E_civil, estado civil

DISCUSIÓN

1.- METODOLOGÍA DEL ESTUDIO

La menopausia se define como el cese permanente de la menstruación que conlleva alteraciones fisiológicas inducidas por la depleción en la secreción de estrógenos, principalmente estradiol, con pérdida de la función folicular (Burger et al., 1995). Dicho periodo comprende una serie de alteraciones en la vida de la mujer tanto fisiológicas como emocionales relacionadas con las fluctuaciones hormonales debido al descenso de la actividad de los ovarios. Ello induce a la aparición de una serie de manifestaciones a nivel psíquico, genito-urinario, neurovegetativos y cardiovascular entre otros (Whitehead and Godfree, 1992b).

Además de las manifestaciones sistémicas anteriormente descritas, durante la menopausia se desarrollan manifestaciones en la cavidad bucal (Ben Aryeh et al., 1996). De entre ellas, la principal manifestación oral es el síndrome de boca ardiente caracterizado por la sensación de ardor intenso y continuado alternándose con una sensación de quemazón espontánea, localizada principalmente en la lengua así como en la encía y los labios (Wardrop et al., 1989). Otras manifestaciones orales descritas son la xerostomía, disgeusia, disfagia, disestesia, gingivitis descamativa crónica al igual que una mayor prevalencia de caries y enfermedad periodontal. También se ha descrito que durante la menopausia aumenta la frecuencia de detección de afectaciones en las mucosas orales tales como liquen plano, penfigoide benigno de las mucosas y síndrome de Sjögren (Frutos et al., 2002, Tarkkila et al., 2008).

La relación existente entre las enfermedades periodontales y las fluctuaciones en la concentración de hormonas sexuales en los diferentes estadios en la vida de la mujer ha sido objeto de estudio de numerosas investigaciones (Amar and Chung, 1994, Mariotti, 1994, Armitage, 1999b, Leimola-Virtanen et al., 2000, Krejci and Bissada, 2002, Mascarenhas et al., 2003, Guncu et al., 2005, Shiau and Reynolds, 2010a, Markou et al., 2011). Dichas investigaciones avalan la presencia de receptores diana de estrógenos en diferentes localizaciones del periodonto, por ejemplo, en las capas endoteliales y espinosa del epitelio gingival (Vittek et al., 1982b), en las células endoteliales y en peritos de vasos sanguíneos de la lámina propia (Vittek et al., 1982c), en fibroblastos del epitelio gingival junto con la presencia de receptores diana de progesterona (Kawahara and Shimazu, 2003). Junto con estos hallazgos, se ha determinado que el periodonto posee la capacidad de metabolizar progesterona (el-Attar et al., 1973) y estrona (Holmes and Elattar, 1977) induciendo incrementos en su tasa de síntesis en periodos de inflamación gingival (Ojanotko-Harri, 1985).

La presencia de receptores diana de estrógenos y progesterona en los tejidos periodontales determina que ante variaciones hormonales se produzcan alteraciones vasculares e inflamatorias en los tejidos. Ambas hormonas son capaces de inducir una reducción en la tasa del flujo corpuscular, un incremento en la proliferación y permeabilidad vascular (Lindhe et al., 1967). Se ha planteado la posibilidad de necesitar una concentración mínima de estrógeno en sangre para que ejerza protección sobre el periodonto, ya que parece ser que la cantidad de estrógeno en sangre está inversamente correlacionada con la prevalencia de la enfermedad periodontal (Planck et al., 1998).

La relación entre la periodontitis y la depleción estrogénica que acontece tras la menopausia ha sido investigada por Genco y Grossi, estableciendo como dicha depleción estrogénica podría ser un factor de riesgo para la enfermedad periodontal. Según los autores, la depleción estrogénica actuaría conjuntamente con los factores de reabsorción ósea estimulados por lo periodontopatógenos lo que induce a la síntesis de una serie de citoquinas proinflamatorias. Estas citoquinas proinflamatorias, junto con la actividad de reabsorción ósea, inducen a la síntesis de interleuquina 6, factor estimulador de colonias de granulocitos/macrófagos y de factor estimulador de colonias macrófago, los cuales regulan la proliferación de precursores de osteoclastos así como la activación de estos últimos. El resultado de este proceso se manifiesta con un aumento de la inflamación así como de la reabsorción ósea (Genco and Grossi, 1998). Parece por tanto razonable asumir que los cambios hormonales que acontecen una vez establecida la menopausia pueden estar asociados en partes con el detrimento en la enfermedad periodontal (Mascarenhas et al., 2003). La depleción estrogénica que acontece tras la menopausia induce por tanto a un descenso en el metabolismo óseo generando un impacto sobre la respuesta inmune e inflamatoria.

Con todo ello, el presente estudio fue diseñado con el objetivo de evaluar el efecto que ejerce la concentración de estradiol en sangre, en mujeres postmenopáusicas diagnosticadas con periodontitis crónica generalizada moderada, en base a variables clínicas e inmunológicas, en la respuesta tras el tratamiento periodontal no quirúrgico. Los resultados muestran una mejoría clínica representada por una disminución en la profundidad de sondaje y en la pérdida de inserción tras el tratamiento periodontal no quirúrgico sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas en función de la concentración de estradiol en sangre. Esta tendencia descrita en los parámetros clínicos se pone también de manifiesto en los parámetros inmunológicos (concentración de interleuquina 1 β , interleuquina 6 e interleuquina 17 en el fluido gingival crevicular).

La población de referencia estuvo constituida por un total de 317 mujeres postmenopáusicas de las cuales sólo 166 fueron invitadas a participar en el estudio. El principal motivo de exclusión de las 151 mujeres restantes fue el diagnóstico de perimenopausia, pues muchas de ellas continuaban alternando ciclos ovulatorios con otros anovulatorios sin presentar una amenorrea establecida de más de 12 meses. Tras la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión definidos la población de estudio se redujo a 41 mujeres tras descartar a 73 de ellas por presentar edades fuera del rango de edad establecido, a 23 por consumo de bifosfonatos, a 15 por haberse realizado tratamiento periodontal no quirúrgico previamente y estar incorporadas en un programa de mantenimiento periodontal, a 10 por presentar menopausia quirúrgica y, a 4 de ellas por haber recibido antibioterapia sistémica en los 6 meses previos al estudio. La población de estudio estuvo conformada por mujeres postmenopáusicas diagnosticadas de periodontitis crónica moderada generalizada conformando dos cohortes en base al factor de exposición (concentración de estradiol en sangre).

Es importante resaltar el esfuerzo realizado durante el reclutamiento por la dificultad de seleccionar mujeres postmenopáusicas que empleasen terapia hormonal sustitutiva en la actualidad y que dicho tratamiento estuviese corroborado por una concentración de estradiol en sangre igual o superior a 30 pg/mL. Tomando como referencia los datos epidemiológicos descritos con anterioridad, la terapia hormonal sustitutiva es empleada por un 3-20% de la sociedad española (Balade Martinez et al., 2016), reduciéndose a la mitad dicho porcentaje a los dos años de consumo y hasta el 70% a los 5 años (Castelo-Branco et al., 2007). Además de ser un porcentaje de la población reducido, las mujeres postmenopáusicas que emplean terapia hormonal sustitutiva suelen presentar una mayor conciencia de la salud en general por lo que pudieran tener un mayor cuidado a nivel dental acudiendo con mayor frecuencia al dentista y reduciendo por tanto el porcentaje de mujeres postmenopáusicas que presenten enfermedad periodontal no tratada (Grodstein et al., 1996, Tarkkila et al., 2008).

El establecimiento del umbral de corte en base al cual considerar cada cohorte se basó en el estudio de Korenman y cols. que establece 30 pg/mL como el umbral de detección de cambios (Korenman, 1982). Sin embargo, en nuestro estudio, se categorizó la concentración de estradiol en sangre en diferentes rangos (<10 pg/ml, 10.1-20 pg/ml, 20.1-30 pg/ml, 30.1-40 pg/ml, >40 pf/ml) con la finalidad de obtener una mayor precisión del efecto que ejerce en el tratamiento periodontal no quirúrgico.

Los riesgos asociados a la prescripción de estrógenos en la menopausia son actualmente motivo de controversia (Nelson, 2002, Canonico et al., 2008). La THS se emplea con el fin de disminuir los síntomas anteriormente descritos asociados a la menopausia, principalmente los sofocos. Como efecto adicional se sabe que la THS previene de las consecuencias sistémicas de la menopausia tales como las fracturas óseas a consecuencia de la osteoporosis. Al mismo tiempo que ejerce un efecto beneficio a nivel sistémico, se ha propuesto que dicho efecto pueda manifestarse en la cavidad bucal contribuyendo a una mejoría de los parámetros clínicos periodontales, principalmente del nivel de inserción clínico.

Se estableció un seguimiento de las cohortes longitudinal a lo largo de tres meses donde se re-evaluaron al mes y a los tres meses. El diseño longitudinal se correlaciona con otros estudios similares donde se evalúa la respuesta tras el tratamiento periodontal no quirúrgico (Unsal et al., 1994, Forabosco et al., 2006, Zanatta et al., 2006, Cosyn et al., 2013) obteniéndose en este periodo de tiempo mejoría en la respuesta clínica principalmente en la reducción de la pérdida de inserción (Haffajee et al., 1997, Cugini et al., 2000). Los estudios demuestran como la evaluación de la respuesta del periodonto tras el tratamiento periodontal debe ser realizado tras cuatro semanas. El mayor cambio en la reducción de la profundidad de sondaje y en la ganancia del nivel de inserción clínico ocurren pasados de uno a tres meses tras el tratamiento periodonto (Caton et al., 1982, Badersten et al., 1984a, Badersten et al., 1984b). Sin embargo este estudio es, a nuestro entender, el primer estudio observacional que se centra en evaluar el efecto que ejerce la concentración de estradiol en sangre en el tratamiento periodontal no quirúrgico en mujeres postmenopáusicas.

Las variables clínicas registradas en este estudio son el índice de placa (Silness and Loe, 1964) y el índice gingival (Loe, 1967) así como la profundidad de sondaje, recesión gingival y, nivel de inserción clínico en todos los dientes (excepto los terceros molares), en seis localizaciones por diente, con una sonda periodontal North-Carolina (Hu-Friedy, Leimen, Alemania). Las variables inmunológicas registradas fueron la concentración y la cantidad de IL-1 β , IL-6 e IL-17 en FGC. Se registraron también variables socio-demográficas (estado civil, nivel de estudios y profesión) y datos de relacionados con la salud general y dental de las participantes (edad, edad aparición menopausia, tipo de menopausia, tipo tratamiento hormonal sustitutivo, enfermedades sistémicas, consumo de medicamentos, alergias y hábito tabáquico) en una entrevista previa al estudio.

Las localizaciones seleccionadas para la toma de muestras de FGC varía entre los diferentes estudios, los estudios clásicos toman como referencia dos localizaciones con afectación periodontal (localizaciones con una profundidad de sondaje $\geq 5\text{mm}$ y con pérdida de inserción clínica $\geq 6\text{mm}$) y las comparan con otras dos localizaciones periodontalmente sanas (localizaciones con una profundidad de sondaje $\leq 4\text{mm}$ y con pérdida de inserción clínica $\leq 2\text{mm}$) (Reinhardt et al., 1994, Payne et al., 1997, Reinhardt et al., 1998, Reinhardt et al., 1999, Reinhardt et al., 2010). Otros estudios toman las muestras de la región mesio-vestibular de los premolares y molares maxilares y mandibulares (Streckfus et al., 1997), mientras que otros toman la muestra de la cara mesial de los primeros molares maxilares (Ha et al., 2004). Considerando la variabilidad en la metodología entre los diferentes estudios, con la finalidad de obtener una muestra representativa de la afectación periodontal y para una correcta comparación entre estudios, seleccionamos dos localizaciones con afectación periodontal definidas como aquellas que presentasen una profundidad de sondaje $\geq 5\text{mm}$ junto con sangrado y con pérdida de inserción clínica $\geq 6\text{mm}$.

El registro de las variables clínicas fue llevado a cabo por dos examinadores (S.A. y R.D.) ciegos en todo momento del estudio al grupo al que pertenecían las mujeres. Previo a la realización de este estudio se llevó a cabo una calibración inter e intraexaminador para las variables clínicas hasta alcanzar un grado de concordancia casi completo. Se obtuvo un índice kappa interexaminador de 0,91 y 0,93 para índice de placa e índice gingival, así como un coeficiente de correlación intraexaminador de 0,90 y 0,94 respectivamente. Para las variables principales del estudio (profundidad de sondaje y nivel e inserción clínico) se obtuvo un índice kappa interexaminador de 0,87 y 0,89 respectivamente y, un coeficiente de correlación intraexaminador de 0,88 y 0,91 respectivamente. El registro de las variables clínicas se llevo a cabo empleando un sonda periodontal manual, en seis localizaciones por diente, con una variabilidad en el 90% de los casos de aproximadamente $\pm 1\text{mm}$ siendo un valor altamente aceptable (Page and Eke, 2007).

La mayoría de los estudios han sido realizados en Estados Unidos, Portugal, Alemania y Japón. La mayoría de estos estudios comparan mujeres postmenopáusicas con mujeres perimenopáusicas y si comparan mujeres postmenopáusicas entre si en su diseño metodológico no realizan un control de la concentración de estradiol en sangre o bien, no valoran la respuesta del tratamiento periodontal no quirúrgico. Como podemos comprobar, no existe ningún estudio prospectivo que compare mujeres postmenopáusicas ED respecto de aquellas ES, en base al consumo de terapia hormonal sustitutiva corroborado por su concentración de estradiol en sangre, y el efecto que ello conlleva en la respuesta al tratamiento periodontal no quirúrgico.

El estudio llevado a cabo sobre 328 mujeres portuguesas (*Porto Alegre Study*) determinó que las mujeres que se encontraban en menopausia sin empleo de THS presentaban 2 veces mayor riesgo de presentar periodontitis respecto aquellas que si consumían estrógenos exógenos, estableciendo que la menopausia podría ser un indicador de riesgo de pérdida de inserción clínica (Haas et al., 2009). Sin embargo el diseño de este estudio es transversal no estableciendo relación causal entre el efecto de estradiol y la respuesta al tratamiento periodontal. Otro estudio realizado en este caso en la población alemana (*Pomeranian Study*) sobre 1.918 mujeres de las cuales 813 están en algún estadio de menopausia determina una mayor perdida de inserción en estas mujeres. Se trata como en el estudio anterior de un diseño transversal que no estable relación causal ademas de no considerar mujeres postmenopáusicas en si ni su concentración de estradiol. En la población japonesa se llevó a cabo un estudio sobre 330 mujeres pero estableciendo únicamente relación entre la retención dental respecto a la densidad mineral ósea (Taguchi et al., 2004).

Los estudios clásicos llevados a cabo en la universidad de Nebraska presentan un diseño transversal en el que compran mujeres premenopáusicas con mujeres postmenopáusicas (Payne et al., 1993, Reinhardt et al., 1994) o longitudinal, en este ultimo caso evalúan mujeres en terapia periodontal de mantenimiento para establecer periodontitis recidivantes (Reinhardt et al., 1998, Reinhardt et al., 1999, Reinhardt et al., 2010).

En Estados Unidos se han llevado a cabo diversos estudios que han evaluado el papel que ejerce la menopausia así como el empleo de THS en la prevalencia de la enfermedad periodontal. El estudio que evalúa una población de 11.655 mujeres que forman parte del *NHANES III* determina que las mujeres ED presentan un mayor riesgo de pérdida de inserción clínica que aquellas ES tras ajustar factores de confusión (Ronderos et al., 2000). Estos resultados son avalados por otros estudios que encuentran una mayor afectación periodontal en pacientes postmenopáusicas (Payne et al., 1999, Reinhardt et al., 1999, Tezal et al., 2000). En otro estudio llevado a cabo sobre 1.025 mujeres que conforman el *Buffalo OsteoPerio Study* obtenidas de entre 2.249 mujeres que conforman el estudio del *Women's Health Initiative Observational Study (WHI-OS)* determina que la prevalencia de la periodontitis es mayor en mujeres postmenopáusicas y que a los cinco años presentan una mayor pérdida ósea sin mostrar cambios respecto a la profundidad de sondaje y el nivel de inserción clínico (LaMonte et al., 2013a). Un estudio más reciente del mismo grupo de investigación determinó que no existía relación entre la concertación de estradiol en sangre y la pérdida de hueso alveolar pero que aquellas mujeres que empleaban THS mostraban menor pérdida de forma no significativa (Wang et al., 2015).

La prevalencia de la periodontitis en diferentes poblaciones en base a la presencia de al menos una localización con un pérdida de inserción clínica mayor o igual a 5mm fue del 87% entre mujeres de 40 a 69 años en la población portuguesa (Haas et al., 2009), alcanzado valores similares en la población alemana (Holtfreter et al., 2009). Dicha prevalencia se ve reducida en la población americana variando entre 11,4% a 29,8% (Albandar et al., 1999). Sin embargo establecer comparaciones entre los estudios descritos y el presente es difícil debido a diferencias en los tamaños muestrales, el diseño de los estudios así como en las variables analizadas.

En la sociedad española se han realizado dos estudios que han tratado de establecer la prevalencia de la periodontitis entre mujeres postmenopáusicas. El estudio transversal llevado a cabo por la universidad de Sevilla evalúa a 64 mujeres postmenopáusicas y determina que la prevalencia de la periodontitis afecta al 63% de la muestra sin determinar grado de afectación en función de la concentración de estradiol en sangre. Este estudio evalúa la concentración de osteocalcina en FGC, saliva y sangre y su correlación con la presencia de periodontitis y osteoporosis estableciendo que concentraciones elevadas de osteocalcina en FGC se correlacionan con periodontitis no con osteoporosis (Bullon et al., 2005). Otro estudio transversal más reciente se ha realizado en la universidad de Barcelona en este caso para determinar la presencia de periodontopatógenos en muestras de placa subgingival y su relación con parámetros periodontales. Los investigadores determinan que la osteoporosis no influye en la prevalencia de periodontitis en mujeres postmenopáusicas (Hernandez-Vigueras et al., 2016). El único estudio longitudinal realizado en España que evalúa el efecto de la THS sobre la respuesta al tratamiento periodontal no quirúrgico fue llevado a cabo en la universidad de Salamanca. Los autores evaluaron a un total de 210 mujeres que categorizaron en dos grupos en función de si consumían o no THS pero sin corroborar dichos datos con concertación de estradiol en sangre, sin diferenciar entre tipo de menopausia (43% de la muestra presenta menopausia por fallo ovárico precoz o quirúrgica), sin establecer grado de afectación periodontal previo al estudio, sin establecer tipo de tratamiento periodontal realizado y sin un registro de variables clínicas completo (sólo registran movilidad y profundidad de sondaje) (Lopez-Marcos et al., 2005). De ahí la importancia de nuestro estudio donde hemos pretendido establecer el efecto adicional que ejerce la THS en el tratamiento periodontal no quirúrgico controlando en la mayor medida de lo posible todos los parámetros.

Respecto a los criterios de selección establecidos, éstos son similares a los empleados en otros estudios observacionales relacionados. A la hora de seleccionar a las mujeres del estudio se fue muy riguroso en el cumplimiento del rango de edad establecido, siendo el principal motivo de exclusión del 43,97% de la muestra. Para ello se tomó como referencia la edad media de aparición de la menopausia según datos de la SEGO, siendo ésta de 51,4 años, con un rango de edad que comprende desde los 48 a los 54 años (Mendoza et al., 2013). En el criterio de selección se estableció un rango de edad comprendido entre los 48 a los 64 años pues la postmenopausia abarca un periodo de diez años de duración (Cano, 1996b). Con este criterio también nos asegurábamos de seleccionar pacientes con menopausia fisiológica descartando aquellas que presentasen menopausia precoz o quirúrgica.

La definición de periodontitis es uno de los parámetros con mayor variabilidad de un estudio a otro. Existe una gran diversidad de definiciones para la enfermedad periodontal empleadas en los estudios clínicos lo que plantea varios problemas. Diversos autores (Reinhardt et al., 1999, Bullon et al., 2005) definen periodontitis como la presencia de pérdida de inserción mayor o igual a 6mm en dos o más localizaciones y profundidad de sondaje mayor o igual a 5mm en una o más localizaciones (Machtei et al., 1992). Otros (Reinhardt et al., 1994) como la presencia de dos o más localizaciones interproximales con una profundidad de sondaje mayor o igual a 5mm, con pérdida ósea radiográfica y con una pérdida de inserción mayor o igual a 6mm (Suzuki, 1988). El estudio llevado a cabo sobre “Buffalo OsteoPerio Study” (LaMonte et al., 2013b) emplea dos definiciones de periodontitis para categorizar su muestra en función del grado de afectación, por un lado definen periodontitis en función de la altura de la cresta alveolar y de la pérdida dentaria (Wactawski-Wende, 2001); por otro lado, en base a la pérdida de inserción clínica y la profundidad de sondaje (Page and Eke, 2007). Otros autores por el contrario no especifican la definición empleada en su estudio (Tezal et al., 2000). En nuestro estudio hemos empleado la definición de periodontitis descrita por Armitage y cols. según la cual para el diagnóstico de periodontitis crónica moderada generalizada se requiere una pérdida de inserción al sondaje mayor o igual a 4mm en al menos un 30% por las piezas dentales, así como una pérdida ósea marginal superior al 30% en al menos el 50% de los dientes. (Armitage, 1999a).

2.- PARÁMETROS CLÍNICOS

2.1.- Índice de placa

En este estudio, se observan cambios estadísticamente significativos ($p < 0,001$) en la reducción del índice de placa entre la visita basal y la visita de re-evaluación al mes, valores que se mantienen estables a los tres meses, lo que coincide con los resultados aportados por los estudios longitudinales clásicos (Pihlstrom et al., 1983, Ramfjord et al., 1987, Haffajee et al., 1997, Cugini et al., 2000).

Si comparamos las cohortes de estudio entre sí podemos apreciar como ambas presentan una reducción estadísticamente significativa ($p < 0,001$) del índice de placa entre la visita basal y la visita de re-evaluación al mes (0,96 a 0,27 para la cohorte ES y 0,92 a 0,33 para la cohorte ED). Se observa como dichos valores se mantienen estables en el tiempo con una tendencia a incrementar en la cohorte ED sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas (0,26 y 0,38 respectivamente). La disminución alcanzada tras el tratamiento periodontal no quirúrgico y mantenida en el tiempo puede ser debida a las instrucciones de higiene oral dadas a las mujeres como parte del tratamiento.

La mayoría de los estudios relacionados emplean un índice de placa dicotómico con porcentajes de presencia de placa que varían de 47,1% hasta un 77,8% de las localizaciones (Reinhardt et al., 1999, Tezal et al., 2000, Gondim et al., 2013). El estudio de LaMonte y cols. determina tasas de reducción del porcentaje de acúmulo de placa de un 12 ± 27 (LaMonte et al., 2013b). El estudio de Reinhardt y cols. no detecta diferencias entre cohortes ES y ED, al igual que nuestro estudio, incluso describe un mayor porcentaje de acúmulo de placa en la cohorte ES respecto de la ED (64,2% y 47,1% respectivamente). Dichos valores no se correlacionaban con el índice gingival que estará más disminuido en la cohorte ES a pesar del mayor acúmulo de placa (Reinhardt et al., 1999). El estudio llevado a cabo por Bullón y cols. emplea el índice de placa de O'Leary (O'Leary et al., 1972) obteniendo valores de $67,4 \pm 30,1$ (Bullon et al., 2005). El único estudio que emplea el mismo índice de placa (Silness and Loe, 1964) utilizado en este estudio es el de Daltaban y cols. quienes obtienen valores de $1,37 \pm 0,41$ para la cohorte ES y $1,45 \pm 0,31$ para la cohorte ED. Describen también la reducción de los valores tras el tratamiento periodontal siendo de $0,69 \pm 0,15$ y $0,71 \pm 0,16$ respectivamente (Daltaban et al., 2006).

Los resultados proporcionados por el presente estudio nos permiten describir diferencias en función de la localización evaluada. El patrón de comportamiento a lo largo del estudio no difiere del anteriormente descrito. La cohorte ED presenta un menor acúmulo de placa en localizaciones anteriores, interproximales y libres ($0,75 \pm 0,24$, $1,02 \pm 0,29$ y $0,67 \pm 0,27$ respectivamente), mientras que el acúmulo en las localizaciones posteriores es idéntico para ambas cohortes sin alcanzar diferencias significativas ($p > 0,05$). Ambas cohortes muestran un descenso de forma significativa ($p < 0,05$) tras el tratamiento periodontal en todas las localizaciones siendo la cohorte ES la que mantiene dichos valores a los tres meses e incluso presenta una reducción del valor del índice de placa respecto de la visita anterior; la cohorte ED por el contrario tiende a incrementar los valores con el tiempo pero sin alcanzar diferencias significativas. Dicho comportamiento puede deberse a que las instrucciones de higiene oral proporcionadas durante el estudio fuesen mejor empleadas por la cohorte ES correlacionándose con un cepillado más traumática que se manifiesta en un incremento en la recesión gingival tras el tratamiento en dicha cohorte.

Si los resultados de este estudio los analizamos en función de los diferentes grados de concentración de estradiol en sangre se observa como el patrón de comportamiento se repite a lo largo del estudio. Partiendo de valores iniciales de acúmulo de placa similares entre las diferentes categorizaciones de estradiol (<10 pg/ml, $10.1-20$ pg/ml, $20.1-30$ pg/ml, $30.1-40$ pg/ml, >40 pf/ml) se aprecia como la reducción obtenida es semejante entre categorizaciones pero que sólo aquellas mujeres con una concentración de estradiol >40 pg/ml tienden a reducir el acúmulo de placa con el tiempo. Por lo tanto, concentraciones de estradiol en sangre >40 pg/ml asociado a instrucciones de higiene oral adecuadas permiten un mayor control del acúmulo de placa. Interesante sería correlacionar los resultados obtenidos con una menor inflamación gingival.

2.2.- Índice Gingival

En nuestro estudio hemos determinado como ya desde la visita inicial existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en el comportamiento de ambas cohortes a lo largo del estudio respecto a la inflamación gingival. La cohorte ED presenta una mayor severidad de la inflamación gingival respecto a la cohorte ES ($0,80 \pm 0,35$ y $0,54 \pm 0,17$ respectivamente) independientemente del acúmulo de placa inicial.

La cohorte ES presenta una reducción del índice gingival de un -33% tras el tratamiento periodontal que continua disminuyendo a lo largo del estudio en un -30% hasta alcanzar una reducción total del -53% respecto del valor basal a pesar de presentar un mayor acúmulo de placa. Mientras, la cohorte ED presenta una reducción en la re-evaluación al mes de un -30% tras el tratamiento pero al cabo de los 3 meses los valores remontan +15% sin alcanzar los basales.

Como ocurría con el índice de placa, se observa una reducción estadísticamente significativa ($p<0,001$) en el índice gingival entre la visita basal y la visita de re-evaluación al mes, manteniéndose estables en el tiempo, lo que coincide con los resultados aportados por los estudios longitudinales clásicos (Pihlstrom et al., 1983, Ramfjord et al., 1987, Haffajee et al., 1997, Cugini et al., 2000).

Al igual que con el índice de placa, la mayoría de los estudios relacionados emplean un índice gingival dicotómico. Los porcentajes de presencia de sangrado abarcan entre un 28% a un 35% de las localizaciones (Reinhardt et al., 1994, Reinhardt et al., 1999, Tezal et al., 2000, LaMonte et al., 2013b). El estudio de Bullón y cols. emplea el índice gingival de Van der Velden (van der Velden, 1979) obteniendo valores muy elevados de $74,5\pm 17,5$ (Bullon et al., 2005). El índice gingival de Loe & Silness empleado en nuestro estudio fue también utilizado por el estudio de Daltaban y cols. los cuales obtienen valores de $1,56\pm 0,21$ para la cohorte ES y de $1,65\pm 0,20$ para la cohorte ED. Una posible explicación para la diferencia de los valores entre el estudio de Daltaban y cols. y el nuestro es el grado afectación periodontal de las muestras, ya que la cohorte turca estaba conformada por mujeres con periodontitis crónica moderada-avanzada, mientras que nuestra cohorte por mujeres diagnosticadas de periodontitis crónica moderada.

A diferencia de lo que ocurría con el índice la placa, se aprecian diferencias en el comportamiento de las cohortes en función de la localización analizada. Ambas cohortes presentan diferencias significativas ($p<0,05$) entre si a lo largo de todo el estudio. Es en este caso la cohorte ES la que presenta una menor inflamación en todas las localizaciones independientemente del acumuló de placa. El tratamiento periodontal no quirúrgico demuestra ser efectivo pues reduce el valor del índice gingival en ambas cohortes de manera significativa. Como ocurría con el índice de placa, la cohorte ES mantiene los resultados obtenidos en el tiempo incluso los reduce respecto de la re-evaluación al mes, en este caso, alcanzando diferencias significativas ($p<0,005$).

Si los resultados del estudio los analizamos no por cohortes sino por concentración de estradiol en sangre observamos como se confirma lo anteriormente descrito. Aquellas concentraciones de estradiol mayores de 30,1 pg/ml presentan un menor grado de inflamación gingival, obteniendo un menor grado de inflamación a mayor concentración (mayores de 40 pg/ml). A igual o mayor acúmulo de placa se aprecia como la cohorte ES presenta una menor inflamación gingival, siendo ésta menor a mayor concentración de estradiol en sangre. Hecho que avala el papel protector del estrógeno en la inflamación gingival. De hecho se obtiene de este estudio que concentraciones de estradiol de 10,1-20 pg/ml se asocian con un incremento en el sangrado gingival de 0,29, mientras que concentraciones de 30,1-40 pg/ml inducen a una reducción del mismo de -0,27. Por lo tanto, como habíamos visto con el índice de placa, podemos decir que concentraciones de estradiol en sangre mayor de 40 pg/ml, asociadas a instrucciones de higiene oral adecuadas, presentan una mayor resistencia a la inflamación gingival independientemente del acúmulo de placa.

El estudio realizado por Scardina y cols. sobre una población de 74 mujeres demuestra las variaciones existentes en la microvascularización oral en mujeres postmenopáusicas. Los autores comparan mujeres en premenopausia y mujeres en postmenopausia, periodontalmente sanas, a las que se les realiza una prueba de videocapilaroscopia diagnóstica para determinar la densidad de los bucles capilares de la mucosa gingival, el diámetro de los bucles y la tortuosidad de la mucosa labial. Los autores concluyen que existe un descenso en la el diámetro de los bucles, u aumento en el tortuosidad y un descenso en la densidad en el mucosa periodontal en aquellas mujeres estrógeno deficientes. Proponen que el descenso en la densidad de la mucosa periodontal podría comprometer al epitelio periodontal haciéndolo mas susceptible a la inflamación (Scardina and Messina, 2012). Ello podría explicar los resultados obtenidos en nuestro estudio por los cuales aquellas mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes presentan una mayor inflamación respecto de aquellas estrógeno suficientes.

2.3.- Recesión gingival

La cohorte ES presenta una mayor recesión gingival que se incrementa tras el tratamiento respecto a la cohorte ED. Al analizar los datos en función de las diferentes localizaciones se aprecia como en las localizaciones anteriores la cohorte ES presenta una mayor recesión ($0,73 \pm 0,42\text{mm}$) en comparación con la cohorte ED ($0,49 \pm 0,59\text{mm}$) sin alcanzar diferencias significativas ($p > 0,05$).

Dichos valores tienden a aumentar tras el tratamiento periodontal no quirúrgico alcanzando valores de $1,19 \pm 0,80$ mm en la cohorte ES y de $0,60 \pm 0,54$ mm en la cohorte ED y manteniéndose en el tiempo. La instauración de técnicas de higiene y su mayor grado de cumplimiento en ocasiones exagerado por la cohorte ES podría explicar el menor acumulo de placa y la menor inflamación a expensas de una mayor retracción de los tejidos blandos.

Al analizar los resultados teniendo en cuenta la concentración de estradiol en sangre se aprecia como concentraciones inferiores a 30 pg/ml se asocian con menor retracción gingival y como valores superiores presentan incrementos de esta variable clínica. Se aprecia de forma sorprendente como aquellas mujeres con concentraciones de estradiol entre 31,1-40 pg/ml muestran un mayor grado de recesión gingival respecto de aquellas con concentraciones superiores a 40 pg/ml.

2.4.- Profundidad de Sondaje

Los resultados de este estudio muestran reducciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$) respecto a la profundidad de sondaje entre la visita basal y la visita de re-evaluación al mes, resultados que se mantienen estables a los tres meses. Dichos resultados, al igual que los anteriores, coinciden con los obtenidos en los estudios longitudinales clásicos (Pihlstrom et al., 1983, Ramfjord et al., 1987, Haffajee et al., 1997, Cugini et al., 2000). El valor medio de profundidad de sondaje de este estudio en basal fue de $3,85 \pm 0,55$ mm, el valor de reducción tras el tratamiento periodontal al mes de re-evaluación fue de $-1,04 \pm 0,18$ mm, reduciendo la profundidad de sondaje hasta los $2,81 \pm 0,37$ mm. Los estudios clásicos determinan que la reducción media en la profundidad de sondaje en bolsas periodontales iniciales de 1-3 mm es de $-0,34$ mm y en bolsas de 4-6 mm de $-1,29$ mm, lo que está en concordancia con nuestro estudio (Cobb, 2002).

En este estudio no hemos encontrado diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ambas cohortes respecto a la respuesta tras el tratamiento periodontal en la reducción de la profundidad de sondaje. La cohorte ES presenta un valor inicial de $3,91 \pm 0,59$ mm que se reduce hasta un valor de $2,81 \pm 0,41$ mm al mes y se mantiene estable en el tiempo ($2,80 \pm 0,43$ mm). La cohorte ED muestra una profundidad de sondaje de $3,79 \pm 0,52$ mm reduciéndose hasta $2,81 \pm 0,33$ mm en la re-evaluación al mes, mostrando en este caso un ligero incremento a los tres meses ($3,03 \pm 0,36$ mm) pero sin alcanzar diferencias significativas ($p > 0,05$).

Si categorizamos la profundidad de sondaje observamos como la cohorte ES presenta más de la mitad de sus localizaciones (64,6%) con valores menores a 4mm, estando el resto de localizaciones (36,4%) en profundidades de sondaje entre 4-6mm. La cohorte ED presenta el 46,7% de sus localizaciones con valores comprendidos entre 4-6mm y sólo el 53,3% de las mismas con valores menores a 4mm. A pesar de definir la muestra como pacientes con periodontitis crónica moderada generalizada se aprecia como la distribución de frecuencias con profundidad de sondaje mayores de 4mm es mayor en la cohorte ED, valores que están en concordancia por los descritos por Reinhardt y cols. (Reinhardt et al., 1994).

Las investigaciones clínicas que evalúan en mujeres postmenopáusicas valores de profundidad de sondaje presentan datos que varían de $2,18 \pm 0,39$ mm a $2,6 \pm 0,7$ mm (Bullon et al., 2005, Lopez-Marcos et al., 2005, LaMonte et al., 2013b). El estudio clásico realizado en la universidad de Nebraska sobre una población de 26 mujeres divididas en dos grupos (mujeres en premenopausia y mujeres en postmenopausia) determina que la proporción de localizaciones con una profundidad de sondaje mayor a 4mm es mayor en aquellas mujeres en postmenopausia (ED) respecto de aquellas mujeres en premenopausia (ES) (Reinhardt et al., 1994).

El estudio de Daltaban y cols. llevado a cabo en 73 mujeres postmenopáusicas divididas en dos grupos en función de su concentración de estradiol en sangre determina que no existen diferencias significativas ($p > 0,005$) intergrupo para los valores de profundidad de sondaje ($3,35 \pm 0,51$ mm para el grupo ES y $3,58 \pm 0,67$ mm para el grupo ED) pero sí intragrupo ($p < 0,05$) tras el tratamiento periodontal ($2,79 \pm 0,33$ mm para el grupo ES y $3,14 \pm 0,75$ mm para el grupo ED) pero sin alcanzar diferencias significativas intergrupo ($p > 0,05$) (Daltaban et al., 2006). Resultados en concordancia con los obtenidos en el presente estudio. Por el contrario, el estudio de Lopez-Marcos y cols. determina que aquellas mujeres que emplean THS presentan una mejor respuesta al tratamiento periodontal no quirúrgico (Lopez-Marcos et al., 2005).

Como ocurría con las anteriores variables se aprecian diferencias en el comportamiento en el tiempo entre ambas cohortes cuando diferenciamos entre localizaciones. No existen diferencias entre localizaciones respecto al valor medio de la profundidad de sondaje en cada una de las visitas, siendo estos muy similares. Ambas cohortes reducen la profundidad de sondaje tras el tratamiento en todas las localizaciones de forma significativa pero sin alcanzar diferencias entre ellas.

El establecimiento de instrucciones de higiene oral y su refuerzo en cada una de las visitas se relaciona con menores acúmulos de placa y menor inflamación gingival así como con un mantenimiento de los valores de reducción obtenidos en la profundidad de sondaje. Como se ha descrito hasta este momento, la cohorte ES presenta un mantenimiento de los resultados obtenidos en el tiempo mientras que la cohorte ED tiende a presentar recidiva.

Analizando los resultados según la concentración de estradiol en sangre observamos los mismo resultados. Concentraciones inferiores a 30 pg/ml se asocian con una mayor recidiva tras el tratamiento respecto de aquellas concentraciones mayores a 40 pg/ml. Al establecer los diferentes umbrales de corte en función de las concentraciones de estrógenos vemos como tras el tratamiento periodontal todas desarrollan una reducción en la profundidad de sondaje pero aquellas mujeres con concentraciones entre 10,1-20pg/ml así como entre 20,1-30 presenta una tendencia hacia la recidiva a los tres meses del tratamiento, mientras que concentraciones superiores tienden a mantener los resultados obtenidos en el tiempo, incluso aquellas mujeres con concentraciones entre 30,1-40pg/ml presentan una continua reducción en el tiempo. De hecho, los resultados de nuestro estudio muestran como aquellas mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes presentaron un OR=0,750 (IC 95%, 1,16-4,13) para desarrollar localizaciones con una profundidad de sondaje ≥ 4 mm en la visita de re-evaluación a los 3 meses.

2.5.- Pérdida de inserción clínica

Los estudios longitudinales clásicos, anteriormente citados, determinan que en pacientes con periodontitis crónica moderada generalizada caracterizada por la presencia de localizaciones con profundidades de sondaje entre 1-3mm presentan una pérdida de inserción clínica tras el tratamiento periodontal no quirúrgico de -0,34mm, mientras que las localizaciones con una profundidad de sondaje entre 4-6mm muestran una ganancia en el nivel de inserción clínico de 0,55mm (Cobb, 2002). Nuestro estudio muestra una ganancia en el nivel de inserción clínico de 0,76mm tras el tratamiento periodontal.

Como con la variable clínica anterior, no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ambas cohortes respecto al comportamiento a lo largo del estudio. Ambas cohortes muestran una ganancia en el nivel de inserción clínico de forma significativa ($p < 0,05$) tras el tratamiento periodontal pero sin alcanzar diferencias intergrupo.

La cohorte ES presenta una ganancia en el nivel de inserción clínico tras el tratamiento periodontal al mes de la re-evaluación que se mantiene a los tres meses, incrementando su ganancia; por el contrario, la cohorte ED tiende a reducir la ganancia obtenida tras el tratamiento periodontal a los tres meses de forma no significativa ($p>0,005$).

El estudio sobre la cohorte del *Buffalo OsteoPerio Study* llevado a cabo en Estados Unidos sobre una población de 1.025 mujeres postmenopáusicas diagnosticadas de enfermedad periodontal determina que el nivel de inserción clínico medio fue de $2,36\pm0,65\text{mm}$ alcanzando valores máximos de $4,87\pm1,32\text{mm}$. A los 5 años se determina que en aquellas mujeres que se encontraban en premenopausia presentaban ganancia de inserción clínica con un valor medio de $0,10\pm0,53\text{mm}$ mientras que aquellas que se encontraban en postmenopausia presentaban pérdida de inserción clínica $-0,02\pm0,63\text{mm}$ (LaMonte et al., 2013b).

El estudio de Daltaban y cols. llevado a cabo en 73 mujeres postmenopáusicas divididas en dos grupos en función de su concentración de estradiol en sangre determina que no existen diferencias significativas ($p>0,005$) intergrupo para los valores de profundidad de sondaje ($3,35\pm0,51\text{mm}$ para el grupo ES y $3,58\pm0,67\text{mm}$ para el grupo ED) pero sí intragrupo ($p<0,05$) tras el tratamiento periodontal ($2,79\pm0,33\text{mm}$ para el grupo ES y $3,14\pm0,75\text{mm}$ para el grupo ED) pero sin alcanzar diferencias significativas intergrupo ($p>0,05$) (Daltaban et al., 2006).

Como hemos descrito en la variable profundidad de sondaje, las diferentes concentraciones de estradiol en sangre muestran diferentes resultados. Concentraciones de estradiol inferiores a 30 pg/ml se comportan como la cohorte ED sin diferencias respecto al grado de concentración (de 10,1-20 pg/ml o de 20,1-30 pg/ml). Sin embargo es en las concentraciones mayores de 30 pg/ml donde se determinan diferencias, la concentración de estradiol mayor de 40 pg/ml presenta un comportamiento similar a la concentraciones anteriores siendo la concentración de estradiol entre 30,1-40 pg/ml la que presenta mayor pérdida de inserción a expensas de la mayor retracción gingival que presentaban estos pacientes pero al mismo tiempo desarrolla una mayor ganancia en el nivel de inserción clínica a los tres meses.

Los resultados de nuestro estudio muestran como aquellas mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes presentan un OR=1,57 (IC 95%, 1,29-6,42) para desarrollar pérdida de inserción ≥ 4 mm a los 3 meses. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en el estudio de Reinhardt y cols. los cuales establecieron un OR=1,67 de futura pérdida de inserción clínica en pacientes postmenopáusicas inmersas en un programa de mantenimiento periodontal si no empleaban terapia hormonal sustitutiva (Reinhardt et al., 2010).

Los resultados clínicos resultantes de nuestra investigación ponen de manifiesto la importancia de la terapia periodontal de mantenimiento en mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes, estableciendo este parámetro como un factor de riesgo a considerar en el establecimiento de la frecuencia entre las visitas de mantenimiento. La probabilidad de una mayor inflamación gingival así como mayor recidiva en el incremento de las bolsas periodontales con la consecuente pérdida de inserción en las mujeres postmenopáusicas estrógeno deficientes tras la terapia periodontal no quirúrgica determina que deban ser consideradas como una población de riesgo ante futura pérdida de inserción clínica. Los estudios clásicos anteriormente nombrados destacan la importancia de este hecho proponiendo el empleo de marcadores pronóstico que determinen el riesgo de padecer pérdida de inserción, tales como determinadas citoquinas (Reinhardt et al., 2010, Markou et al., 2011). A continuación se detallan los resultados obtenidos de nuestra investigación al proponer como marcadores pronóstico a determinadas citoquinas pro-inflamatorias tales como la interleuquina 1 β , la interleuquina 6 y la interleuquina 17.

3.- PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS

3.1.- Interleuquina 1 β

Tomando como referencia estudios que determinan la concentración de dicha interleuquina en el FGC podemos afirmar que la concentración se encuentra elevada en mujeres postmenopáusicas con periodontitis crónica moderada generalizada y como fluctúa en función de la concentración de estrógenos en sangre. En nuestro estudio la muestra presentó un valor medio de IL-1 β de 174,99 \pm 30,65 pg/ml alcanzando diferencias significativas entre ambas cohortes pues la cohorte ED presentó una mayor concentración (193,52 \pm 44,56 pg/ml).

Tras el tratamiento periodontal ambas cohortes reducen su concentración de IL-1 β de forma significativa ($p < 0,05$) pero la cohorte ES alcanza una mayor reducción en comparación con la cohorte ED de forma significativa ($p < 0,05$).

Considerando las diferentes cohortes en función de la concentración de estradiol en sangre se aprecia como concentraciones entre 10,1-20pg/ml y 20,1-30pg/ml presentan niveles basales superiores respecto a concentraciones superiores de estradiol y como, tras el tratamiento, dichos niveles decrecen pero de menor manera que en concentraciones de estradiol entre 30,1-40 y mayores o iguales a 40pg/ml. Se determina como a mayor concentración de estradiol en sangre existen menores niveles de IL-1 β y como dichas concentraciones alcanzan las mayores reducciones tras el tratamiento periodontal no quirúrgico.

Los estudios llevados a cabo por la universidad de Nebraska fueron los primeros en establecer una relación entre la depleción estrogénica que acontece tras la menopausia y el aumento en la producción de mediadores de la inflamación y la pérdida de inserción clínica en la periodontitis (Reinhardt et al., 1994, Payne et al., 1997, Reinhardt et al., 1998, Reinhardt et al., 1999, Reinhardt et al., 2010).

Este grupo de estudio determinó que aquellas mujeres postmenopáusicas ED presentaban una concentración de IL-1 β mayor que aquellas mujeres ES (93,0 \pm 22,8 pg/ml y 21,9 \pm 13,0 pg/ml respectivamente) (Reinhardt et al., 1994). Las diferencias en las concentraciones obtenidas entre el estudio de Reinhardt y el nuestro se debe a que en su estudio se consideraban a mujeres con historia previa de periodontitis ya tratada mientras que en el nuestro todas las pacientes presentan periodontitis crónica moderada generalizada sin tratar alcanzando valores similares una vez realizado el tratamiento periodontal no quirúrgico.

3.2.- Interleuquina 6

Los valores de la concentración de la IL-6 en el FGC tienden a estar más elevados en localizaciones enfermas respecto de aquellas que están en salud. Al igual que ocurría con la IL-1 β , la IL-6 presenta el mismo patrón de comportamiento a lo largo del estudio. Los estudios anteriores desarrollados en la universidad de Nebraska también comparan las fluctuaciones en las concentraciones de IL-6 en función de la concentración de estradiol en sangre determinando que aquellas mujeres postmenopáusicas ED presentan mayores concentraciones de IL-6 respecto de aquellas mujeres ES (Reinhardt et al., 1994).

Los resultados del presente estudio representan como la cohorte ES muestra concentraciones de IL-6 menores ($11,12 \pm 3,71$ pg/ml) en comparación con la cohorte ED ($20,95 \pm 7,86$ pg/ml). Se propone por lo tanto que las concentraciones elevadas de IL-6 podrían ser un marcador pronóstico de enfermedad periodontal, ya que concentraciones elevadas de IL-6 durante la terapia de mantenimiento periodontal se ha asociado a una mayor prevalencia de periodontitis refractaria en comparación con sujetos sanos (Reinhardt et al., 1994).

De acuerdo con estudios previos que establecen una correlación positiva entre concentraciones elevadas de IL-6 en FGC y el sangrado gingival, de manera que un incremento en la concentraciones se asocia con mayor sangrado (Geivelis et al., 1993), en nuestro estudio hemos obtenido una correlación positiva ($r=0,364$) entre concentraciones elevadas de IL-6 y un mayor sangrado gingival.

3.3.- Interleuquina 17

La concentración de IL-17 en nuestro estudio presenta valores reducidos si se compara con los valores obtenidos en otros estudios previos (Vernal et al., 2005). La tasa de reducción de dicha interleuquina tras el tratamiento periodontal no quirúrgico si que alcanza los parámetros establecidos tendiendo a decrecer una media de $-0,81$ ng/ml (Stadler et al., 2016).

En lo que a nuestro conocimiento se refiere, este es el primer estudio que evalúa la IL-17 como marcador pronóstico de periodontitis en mujeres postmenopáusicas. Los resultados de nuestro estudio muestran como la cohorte ES presenta valores de $2,50 \pm 0,55$ pg/ml en estadios previos al tratamiento periodontal y como dicha concentración se reduce hasta $0,80 \pm 0,23$ pg/ml tras el tratamiento periodontal. La cohorte ED presenta valores incrementados de $3,61 \pm 0,86$ pg/ml, reduciendo hasta $1,77 \pm 0,69$ pg/ml.

Diversas investigaciones han demostrado que la asociación existente entre las variables clínicas (índice de placa, índice gingival, recesión gingival, profundidad de sondaje y nivel de inserción clínico) y las variables inmunológicas (concentración de IL-1 β , IL-6 e IL-17) presentan correlaciones altas

Por lo tanto, concentraciones elevadas de IL-1 β , IL-6 e IL-17 se asocian de forma estadísticamente significativa con mayor inflamación y sangrado al sondaje. Dichos resultados se mantienen cuando se comparan ambas cohortes. La cohorte ED presenta correlaciones positivas estadísticamente significativas entre concentraciones elevadas de las tres citoquinas y el aumento de sangrado en la visita basal. Mientras que la cohorte ES muestra correlaciones positivas ente el descenso en las concentraciones de IL-1 β e IL-17 y el descenso del sangrado en la visita de re-evaluación a los tres meses.

4.- PRINCIPALES LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Una de las principales limitaciones de este estudio es el tamaño muestral reducido así como la alta incidencia de pérdida de sujetos en la cohorte expuesta en la visita de re-evaluación a los tres meses. Sin embargo, ya que el diseño del estudio es observacional y no un ensayo clínico, el potencial impacto de las pérdidas en los resultados también pudiera ser menos relevante.

Los criterios de selección empleados han determinado que las cohortes no sean del todo homogéneas existiendo diferencias significativas entre ambas respecto a la edad media así como a la edad de aparición de la menopausia siendo homogéneas para el resto de variables socio-demográficas.

La heterogeneidad de los estudios evaluados en cuanto a metodología, definición de enfermedad periodontal así como la consideración de diferentes formulaciones en la THS inducen a resultados contradictorios sobre el papel protector que ejerce el estrógeno en el periodonto.

Se requieren por tanto más estudios que evalúen el efecto de la terapia hormonal sustitutiva en el tratamiento periodontal no quirúrgico respecto a la ganancia del nivel de inserción clínico así como en la prevención de la pérdida dental.

CONCLUSIONES

A pesar de las limitaciones del presente estudio, podemos señalar que:

- La respuesta al tratamiento periodontal en mujeres postmenopáusicas con periodontitis crónica bajo terapia hormonal sustitutiva no difiere en base a la reducción en la profundidad de sondaje y en la ganancia en el nivel de inserción clínico, respecto de aquellas mujeres sin dicha terapia hormonal sustitutiva.
- Las mujeres que emplean dicha terapia presentan una menor inflamación gingival independiente del acúmulo de placa. Aquellas mujeres con una concentración de estradiol mayor a 40pg/ml presentan una reducción del índice de placa de -0,27, mientras que aquellas con concentraciones iguales o inferiores a 20pg/ml presentan un incremento en el índice gingival de 0,29.
- Las mujeres que emplean terapia hormonal sustitutiva presentan una mayor recesión gingival que tiende a incrementarse con el tiempo asociado a técnicas de higiene oral respecto aquellas que no emplean dicha terapia.
- Las mujeres que emplean terapia hormonal presentan una menor concentración de mediadores de la inflamación así como un descenso mayor de los mismos tras el tratamiento periodontal no quirúrgico.
- Existe una correlación positiva entre concentraciones elevadas de IL-1 β , IL-6 e IL-17 y el aumento en el sangrado gingival ($r=0,700$; $r=0,640$ y $r=0,494$ respectivamente) en aquellas mujeres que no emplean la terapia hormonal. Por el contrario, existe una correlación positiva entre el descenso en la concentración de IL-1 β e IL-17 con la reducción en el sangrado ($r=0,365$ y $r=0,382$ respectivamente).
- Las mujeres que no emplean terapia hormonal sustitutiva presentan un OR=0,750 (IC 95%, 1,16-4,13) para desarrollar localizaciones con una profundidad de sondaje ≥ 4 mm en la visita de re-evaluación a los 3 meses. Así mismo, presentaron un OR=1,57 (IC 95%, 1,29-6,42) para desarrollar pérdida de inserción ≥ 4 mm a los 3 meses.
- Son necesarios mas estudios que continúen esta linea de investigación y desarrollen los resultados aquí presentados

BIBLIOGRAFÍA

- Abraham-Inpijn, L., Polsacheva, O. V. & Raber-Durlacher, J. E. (1996) [The significance of endocrine factors and microorganisms in the development of gingivitis in pregnant women]. *Stomatologia (Mosk)* 75, 15-18.
- Adriaens, P. A. & Adriaens, L. M. (2004) Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol* 2000 36, 121-145. doi:10.1111/j.1600-0757.2004.03676.x.
- Albandar, J. M., Brunelle, J. A. & Kingman, A. (1999) Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol* 70, 13-29. doi:10.1902/jop.1999.70.1.13.
- Amar, S. & Chung, K. M. (1994) Influence of hormonal variation on the periodontium in women. *Periodontol* 2000 6, 79-87.
- Araujo, M. W., Hovey, K. M., Benedek, J. R., Grossi, S. G., Dorn, J., Wactawski-Wende, J., Genco, R. J. & Trevisan, M. (2003) Reproducibility of probing depth measurement using a constant-force electronic probe: analysis of inter- and intraexaminer variability. *J Periodontol* 74, 1736-1740. doi:10.1902/jop.2003.74.12.1736.
- Armitage (1999a) Consensus Report: Chronic Periodontitis. *Ann Periodontol*, 38.
- Armitage, G. C. (1999b) Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 4, 1-6. doi:10.1902/annals.1999.4.1.1.
- Axelsson, P. & Lindhe, J. (1981) The significance of maintenance care in the treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 8, 281-294.
- Axelsson, P., Nystrom, B. & Lindhe, J. (2004) The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults. Results after 30 years of maintenance. *J Clin Periodontol* 31, 749-757. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00563.x.
- Badersten, A., Nilveus, R. & Egelberg, J. (1984a) Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol* 11, 63-76.
- Badersten, A., Nilveus, R. & Egelberg, J. (1984b) Effect of nonsurgical periodontal therapy. III. Single versus repeated instrumentation. *J Clin Periodontol* 11, 114-124.

- Balade Martinez, L., Montero Corominas, D. & Macias Saint-Gerons, D. (2016) [Utilization of hormone replacement therapy in Spain: Trends in the period 2000-2014]. *Med Clin (Barc)* 147, 287-292. doi:10.1016/j.medcli.2016.05.023.
- Bartold, P. M. & Haynes, D. R. (1991) Interleukin-6 production by human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res* 26, 339-345.
- Batista, A. C., Silva, T. A., Chun, J. H. & Lara, V. S. (2002) Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. *Oral Dis* 8, 254-260.
- Ben Aryeh, H., Gottlieb, I., Ish-Shalom, S., David, A., Szargel, H. & Laufer, D. (1996) Oral complaints related to menopause. *Maturitas* 24, 185-189.
- Birkedal-Hansen, H. (1993a) Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res* 28, 500-510.
- Birkedal-Hansen, H. (1993b) Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol* 64, 474-484. doi:10.1902/jop.1993.64.5s.474.
- Bitzer, J. (2009) Progesterone, progestogens and psychosomatic health of the climacteric woman. *Maturitas* 62, 330-333. doi:10.1016/j.maturitas.2008.10.008 S0378-5122(08)00272-7 [pii].
- Bozkurt, F. Y., Berker, E., Akkus, S. & Bulut, S. (2000) Relationship between interleukin-6 levels in gingival crevicular fluid and periodontal status in patients with rheumatoid arthritis and adult periodontitis. *J Periodontol* 71, 1756-1760. doi:10.1902/jop.2000.71.11.1756.
- Brill, N. & Krasse, B. (1958) The passage of tissue fluid into the clinically health gingival pocket. *Acta Odontol Scand* 16, 233-245.
- Bullon, P., Goberna, B., Guerrero, J. M., Segura, J. J., Perez-Cano, R. & Martinez-Sahuquillo, A. (2005) Serum, saliva, and gingival crevicular fluid osteocalcin: their relation to periodontal status and bone mineral density in postmenopausal women. *J Periodontol* 76, 513-519. doi:10.1902/jop.2005.76.4.513.
- Burger, H. G., Dudley, E. C., Hopper, J. L., Shelley, J. M., Green, A., Smith, A., Dennerstein, L. & Morse, C. (1995) The endocrinology of the menopausal transition: a cross-sectional study of a population-based sample. *J Clin Endocrinol Metab* 80, 3537-3545. doi:10.1210/jcem.80.12.8530596.

- Cano, A. (1996a) Aspectos endocrinos del proceso climatérico. Fundamentos básicos y clínicos en menopausia. pp. 11-50. Madrid: Libro del Año SL.
- Cano, A. (1996b) Aspectos endocrinos del proceso climatérico. Fundamentos básicos y clínicos en menopausia. Madrid: Libro del Año SL.
- Canonico, M., Plu-Bureau, G., Lowe, G. D. & Scarabin, P. Y. (2008) Hormone replacement therapy and risk of venous thromboembolism in postmenopausal women: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 336, 1227-1231. doi:10.1136/bmj.39555.441944.BE bmj.39555.441944.BE [pii].
- Carrillo-de-Albornoz, A., Figuero, E., Herrera, D. & Bascones-Martinez, A. (2010) Gingival changes during pregnancy: II. Influence of hormonal variations on the subgingival biofilm. *J Clin Periodontol* 37, 230-240. doi:10.1111/j.1600-051X.2009.01514.x.
- Castelo-Branco, C., Ferrer, J., Palacios, S., Cornago, S. & Peralta, S. (2007) Spanish post-menopausal women's viewpoints on hormone therapy. *Maturitas* 56, 420-428. doi:10.1016/j.maturitas.2006.11.006.
- Caton, J., Proye, M. & Polson, A. (1982) Maintenance of healed periodontal pockets after a single episode of root planing. *J Periodontol* 53, 420-424. doi:10.1902/jop.1982.53.7.420.
- Champagne, C. M., Buchanan, W., Reddy, M. S., Preisser, J. S., Beck, J. D. & Offenbacher, S. (2003) Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontol 2000* 31, 167-180.
- Chapple, I. L. (1997) Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol* 24, 287-296.
- Chapple, I. L., Landini, G., Griffiths, G. S., Patel, N. C. & Ward, R. S. (1999) Calibration of the Periotron 8000 and 6000 by polynomial regression. *J Periodontal Res* 34, 79-86.
- Cheleuitte, D., Mizuno, S. & Glowacki, J. (1998) In vitro secretion of cytokines by human bone marrow: effects of age and estrogen status. *J Clin Endocrinol Metab* 83, 2043-2051. doi:10.1210/jcem.83.6.4848.
- Chen, T. L., Aronow, L. & Feldman, D. (1977) Glucocorticoid receptors and inhibition of bone cell growth in primary culture. *Endocrinology* 100, 619-628. doi:10.1210/endo-100-3-619.

- Chimenos-Kustner, E., de Luca-Monasterios, F., Schemel-Suarez, M., Rodriguez de Rivera-Campillo, M. E., Perez-Perez, A. M. & Lopez-Lopez, J. (2016) [Burning mouth syndrome and associated factors: A case-control retrospective study]. *Med Clin (Barc)*. doi:10.1016/j.medcli.2016.09.046.
- Civitelli, R., Pilgram, T. K., Dotson, M., Muckerman, J., Lewandowski, N., Armamento-Villareal, R., Yokoyama-Crothers, N., Kardaris, E. E., Hauser, J., Cohen, S. & Hildebolt, C. F. (2002) Alveolar and postcranial bone density in postmenopausal women receiving hormone/estrogen replacement therapy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Intern Med* 162, 1409-1415.
- Cobb, C. M. (1996) Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Ann Periodontol* 1, 443-490. doi:10.1902/annals.1996.1.1.443.
- Cobb, C. M. (2002) Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol* 29 Suppl 2, 6-16.
- Cochran, D. L. (2008) Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol* 79, 1569-1576. doi:10.1902/jop.2008.080233.
- Cohen-Solal, M. E., Graulet, A. M., Denne, M. A., Gueris, J., Baylink, D. & de Vernejoul, M. C. (1993) Peripheral monocyte culture supernatants of menopausal women can induce bone resorption: involvement of cytokines. *J Clin Endocrinol Metab* 77, 1648-1653. doi:10.1210/jcem.77.6.8263153.
- Costerton, J. W., Cheng, K. J., Geesey, G. G., Ladd, T. I., Nickel, J. C., Dasgupta, M. & Marrie, T. J. (1987) Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol* 41, 435-464. doi:10.1146/annurev.mi.41.100187.002251.
- Cosyn, J., Miremadi, S. R., Sabzevar, M. M. & De Bruyn, H. (2013) Clinical effects of an essential oil solution used as a coolant during ultrasonic root debridement. *Int J Dent Hyg* 11, 62-68. doi:10.1111/j.1601-5037.2012.00554.x.
- Cuadros, J., Lopez-Jurado, R. & Sabatel, R. (1999) Menopausia quirurgica. *Climaterio y envejecimiento*. In: *Medicina basada en la evidencia*, pp. 15-33. Zaragoza: Faustino R. Pérez-López.
- Cugini, M. A., Haffajee, A. D., Smith, C., Kent, R. L., Jr. & Socransky, S. S. (2000) The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *J Clin Periodontol* 27, 30-36.

- D'Aoust, P. & Landry, R. G. (1994) The effect of supragingival plaque on crevicular fluid measurements. *Int Dent J* 44, 159-164.
- Dahlen, G., Renvert, S., Wikstrom, M. & Egelberg, J. (1990) Reproducibility of microbiological samples from periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 17, 73-77.
- Daltaban, O., Saygun, I., Bal, B., Balos, K. & Serdar, M. (2006) Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase levels in postmenopausal women: effects of phase I periodontal treatment. *J Periodontol* 77, 67-72. doi:10.1902/jop.2006.77.1.67.
- De Gardarne, C. (1821) *De la Ménopause, ou de l'Âge Critique des Femmes*. Paris, France: Méguignon-Marvis.
- Dennerstein, L., Smith, A. M., Morse, C., Burger, H., Green, A., Hopper, J. & Ryan, M. (1993) Menopausal symptoms in Australian women. *Med J Aust* 159, 232-236.
- Donlan, R. M. & Costerton, J. W. (2002) Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 15, 167-193.
- Eke, P. I., Dye, B. A., Wei, L., Thornton-Evans, G. O., Genco, R. J. & Cdc Periodontal Disease Surveillance workgroup: James Beck, G. D. R. P. (2012) Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J Dent Res* 91, 914-920. doi:10.1177/0022034512457373.
- el-Attar, T. M., Roth, G. D. & Hugoson, A. (1973) Comparative metabolism of 4- 14 C-progesterone in normal and chronically inflamed human gingival tissue. *J Periodontal Res* 8, 79-85.
- ElAttar, T. M. & Hugoson, A. (1974) Comparative metabolism of female sex steroids in normal and chronically inflamed gingiva of the dog. *J Periodontal Res* 9, 284-289.
- Farage, M. A., Neill, S. & MacLean, A. B. (2009) Physiological changes associated with the menstrual cycle: a review. *Obstet Gynecol Surv* 64, 58-72. doi:10.1097/OGX.0b013e3181932a37 0006254-200901000-00023 [pii].
- Ferris, G. M. (1993) Alteration in female sex hormones: their effect on oral tissues and dental treatment. *Compendium* 14, 1558-1564, 1566; quiz 1571.
- Forabosco, A., Criscuolo, M., Coukos, G., Uccelli, E., Weinstein, R., Spinato, S., Botticelli, A. & Volpe, A. (1992) Efficacy of hormone replacement therapy in postmenopausal women with oral discomfort. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 73, 570-574.

- Forabosco, A., Spinato, S., Grandi, T. & Prini, M. (2006) A comparative study between different techniques in non-surgical periodontal treatment. *Minerva Stomatol* 55, 289-296.
- Fossiez, F., Djossou, O., Chomarat, P., Flores-Romo, L., Ait-Yahia, S., Maat, C., Pin, J. J., Garrone, P., Garcia, E., Saeland, S., Blanchard, D., Gaillard, C., Das Mahapatra, B., Rouvier, E., Golstein, P., Banchereau, J. & Lebecque, S. (1996) T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J Exp Med* 183, 2593-2603.
- Friedlander, A. H. (2002) The physiology, medical management and oral implications of menopause. *J Am Dent Assoc* 133, 73-81.
- Frutos, R., Rodríguez, S., Miralles, L. & Machuca, G. (2002) Manifestaciones orales y manejo odontológico durante la menopausia. *Medicina Oral* 7, 26-35.
- Geivelis, M., Turner, D. W., Pederson, E. D. & Lamberts, B. L. (1993) Measurements of interleukin-6 in gingival crevicular fluid from adults with destructive periodontal disease. *J Periodontol* 64, 980-983. doi:10.1902/jop.1993.64.10.980.
- Genazzani, A. D., Petraglia, F., Sgarbi, L., Montanini, V., Hartmann, B., Surico, N., Biolcati, A., Volpe, A. & Genazzani, A. R. (1997) Difference of LH and FSH secretory characteristics and degree of concordance between postmenopausal and aging women. *Maturitas* 26, 133-138.
- Genazzani, A. R. & Bernardi, F. (2002) Estrogen effects on neuroendocrine function: the new challenge of pulsed therapy. *Climacteric* 5 Suppl 2, 50-56.
- Genco, R. J. & Grossi, S. G. (1998) Is estrogen deficiency a risk factor for periodontal disease? *Compend Contin Educ Dent Suppl*, S23-29.
- Genco, R. J., Zambon, J. J. & Christersson, L. A. (1988) The origin of periodontal infections. *Adv Dent Res* 2, 245-259.
- Gold, E. B. (2011) The timing of the age at which natural menopause occurs. *Obstet Gynecol Clin North Am* 38, 425-440. doi:10.1016/j.ogc.2011.05.002.
- Goldzieher, W. (2000) Historical perspectives. In: *Menopause: Biology and Pathology*, (ed.) J. K. R Lobo, R Marcus, pp. 397-404. San Diego, CA: Academic Press.
- Gondim, V., Aun, J., Fukuda, C. T., Takayama, L., Latorre Mdo, R., Pannuti, C. M., Rodrigues Pereira, R. M. & Romito, G. A. (2013) Severe loss of clinical attachment level: an independent association

with low hip bone mineral density in postmenopausal females. *J Periodontol* 84, 352-359. doi: 10.1902/jop.2012.120090.

Gonzalez, J. (1997) *Ginecología*. Barcelona: Masson.

Gordon, C. M., LeBoff, M. S. & Glowacki, J. (2001) Adrenal and gonadal steroids inhibit IL-6 secretion by human marrow cells. *Cytokine* 16, 178-186. doi:10.1006/cyto.2001.0962.

Gould, S. F., Shannon, J. M. & Cunha, G. R. (1983) The autoradiographic demonstration of estrogen binding in normal human cervix and vagina during the menstrual cycle, pregnancy, and the menopause. *Am J Anat* 168, 229-238. doi:10.1002/aja.1001680209.

Graves, D. T., Oskoui, M., Volejnikova, S., Naguib, G., Cai, S., Desta, T., Kakouras, A. & Jiang, Y. (2001) Tumor necrosis factor modulates fibroblast apoptosis, PMN recruitment, and osteoclast formation in response to *P. gingivalis* infection. *J Dent Res* 80, 1875-1879.

Griffiths, G. S. (2003) Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000 31, 32-42.

Griffiths, G. S., Wilton, J. M. & Curtis, M. A. (1992) Contamination of human gingival crevicular fluid by plaque and saliva. *Arch Oral Biol* 37, 559-564.

Grodstein, F., Colditz, G. A. & Stampfer, M. J. (1996) Post-menopausal hormone use and tooth loss: a prospective study. *J Am Dent Assoc* 127, 370-377, quiz 392.

Grodstein, F., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., Willett, W. C., Manson, J. E., Joffe, M., Rosner, B., Fuchs, C., Hankinson, S. E., Hunter, D. J., Hennekens, C. H. & Speizer, F. E. (1997) Postmenopausal hormone therapy and mortality. *N Engl J Med* 336, 1769-1775. doi:10.1056/NEJM199706193362501.

Guncu, G. N., Tozum, T. F. & Caglayan, F. (2005) Effects of endogenous sex hormones on the periodontium--review of literature. *Aust Dent J* 50, 138-145.

Ha, L. Y., A, D. L., Zhong, L. J. & Feng, J. H. (2004) The association between gingival cervical fluid Interleukin-6 level, serum estradiol status and periodontitis in Uyghur postmenopausal women. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 13, 476-479.

- Haas, A. N., Rosing, C. K., Oppermann, R. V., Albandar, J. M. & Susin, C. (2009) Association among menopause, hormone replacement therapy, and periodontal attachment loss in southern Brazilian women. *J Periodontol* 80, 1380-1387. doi:10.1902/jop.2009.090082.
- Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Dibart, S., Smith, C., Kent, R. L., Jr. & Socransky, S. S. (1997) The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 24, 324-334.
- Haney, A. (1986) *Fisiología del climaterio en clínicas obstétricas y ginecológicas*. Madrid: Interamericana.
- Hee, J., MacNaughton, J., Bangah, M. & Burger, H. G. (1993) Perimenopausal patterns of gonadotrophins, immunoreactive inhibin, oestradiol and progesterone. *Maturitas* 18, 9-20.
- Hernandez-Vigueras, S., Martinez-Garriga, B., Sanchez, M. C., Sanz, M., Estrugo-Devesa, A., Vinuesa, T., Lopez-Lopez, J. & Vinas, M. (2016) Oral Microbiota, Periodontal Status, and Osteoporosis in Postmenopausal Females. *J Periodontol* 87, 124-133. doi:10.1902/jop.2015.150365.
- Hildebolt, C. F. (1997) Osteoporosis and oral bone loss. *Dentomaxillofac Radiol* 26, 3-15. doi:10.1038/sj.dmfr.4600226.
- Hofmann, R., Lehmer, A., Braun, J. & Bauer, S. (1986) Activity of phagocytic granulocytes in patients with prostatic cancer. *Urol Res* 14, 327-330.
- Holmes, L. G. & Elattar, T. M. (1977) Gingival inflammation assessed by histology, 3H-estrone metabolism and prostaglandin E2 levels. *J Periodontal Res* 12, 500-509.
- Holtfreter, B., Schwahn, C., Biffar, R. & Kocher, T. (2009) Epidemiology of periodontal diseases in the Study of Health in Pomerania. *J Clin Periodontol* 36, 114-123. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01361.x CPE1361 [pii].
- Hughes, T. P. & Caffesse, R. G. (1978) Gingival changes following scaling, root planning and oral hygiene. A biometric evaluation. *J Periodontol* 49, 245-252. doi:10.1902/jop.1978.49.5.245.
- Hulley, S., Grady, D., Bush, T., Furberg, C., Herrington, D., Riggs, B. & Vittinghoff, E. (1998) Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in

postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. JAMA 280, 605-613.

Hung, H. C. & Douglass, C. W. (2002) Meta-analysis of the effect of scaling and root planing, surgical treatment and antibiotic therapies on periodontal probing depth and attachment loss. J Clin Periodontol 29, 975-986.

INE (2016) INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA. Proyecciones de Población 2014-2064. Madrid. España.

Ito, I., Hayashi, T., Yamada, K., Kuzuya, M., Naito, M. & Iguchi, A. (1995) Physiological concentration of estradiol inhibits polymorphonuclear leukocyte chemotaxis via a receptor mediated system. Life Sci 56, 2247-2253.

Jiroutek, M. R., Chen, M. H., Johnston, C. C. & Longcope, C. (1998) Changes in reproductive hormones and sex hormone-binding globulin in a group of postmenopausal women measured over 10 years. Menopause 5, 90-94.

Jonsson, D., Wahlin, A., Idvall, I., Johnsson, I., Bratthall, G. & Nilsson, B. O. (2005) Differential effects of estrogen on DNA synthesis in human periodontal ligament and breast cancer cells. J Periodontal Res 40, 401-406. doi:10.1111/j.1600-0765.2005.00821.x.

Josefsson, E., Tarkowski, A. & Carlsten, H. (1992) Anti-inflammatory properties of estrogen. I. In vivo suppression of leukocyte production in bone marrow and redistribution of peripheral blood neutrophils. Cell Immunol 142, 67-78.

Jovanovic, D. V., Di Battista, J. A., Martel-Pelletier, J., Jolicoeur, F. C., He, Y., Zhang, M., Mineau, F. & Pelletier, J. P. (1998) IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages. J Immunol 160, 3513-3521.

Judd, H. L., Shamonki, I. M., Frumar, A. M. & Lagasse, L. D. (1982) Origin of serum estradiol in postmenopausal women. Obstet Gynecol 59, 680-686.

Kawahara, K. & Shimazu, A. (2003) Expression and intracellular localization of progesterone receptors in cultured human gingival fibroblasts. J Periodontal Res 38, 242-246.

Kinane, D. F. (2001) Causation and pathogenesis of periodontal disease. Periodontol 2000 25, 8-20.

- Kinane, D. F., Attstrom, R. & European Workshop in Periodontology group, B. (2005) Advances in the pathogenesis of periodontitis. Group B consensus report of the fifth European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol* 32 Suppl 6, 130-131. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00823.x.
- Klemetti, E., Collin, H. L., Forss, H., Markkanen, H. & Lassila, V. (1994) Mineral status of skeleton and advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol* 21, 184-188.
- Knowles, J. W., Burgett, F. G., Nissle, R. R., Shick, R. A., Morrison, E. C. & Ramfjord, S. P. (1979) Results of periodontal treatment related to pocket depth and attachment level. Eight years. *J Periodontol* 50, 225-233. doi:10.1902/jop.1979.50.5.225.
- Korenman, S. G. (1982) Menopausal endocrinology and management. *Arch Intern Med* 142, 1131-1136.
- Koster, A. (1990) Hormone replacement therapy: use patterns in 51-year-old Danish women. *Maturitas* 12, 345-356.
- Kotake, S., Udagawa, N., Takahashi, N., Matsuzaki, K., Itoh, K., Ishiyama, S., Saito, S., Inoue, K., Kamatani, N., Gillespie, M. T., Martin, T. J. & Suda, T. (1999) IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J Clin Invest* 103, 1345-1352. doi:10.1172/JCI5703.
- Krall, E. A., Dawson-Hughes, B., Papas, A. & Garcia, R. I. (1994) Tooth loss and skeletal bone density in healthy postmenopausal women. *Osteoporos Int* 4, 104-109.
- Krejci, C. B. & Bissada, N. F. (2002) Women's health issues and their relationship to periodontitis. *J Am Dent Assoc* 133, 323-329.
- LaMonte, M., Hovey, K., Genco, R., Millen, A., Trevisan, M. & Wactawski-Wende, J. (2013a) Five-year changes in periodontal disease measures among postmenopausal females: The Buffalo OsteoPerio Study. *J Periodontol* 84, 572-584.
- LaMonte, M. J., Hovey, K. M., Genco, R. J., Millen, A. E., Trevisan, M. & Wactawski-Wende, J. (2013b) Five-year changes in periodontal disease measures among postmenopausal females: the Buffalo OsteoPerio study. *J Periodontol* 84, 572-584. doi:10.1902/jop.2012.120137.
- Lamster, I. B. & Ahlo, J. K. (2007) Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Ann N Y Acad Sci* 1098, 216-229. doi:10.1196/annals.1384.027.

- Lapp, C. A., Thomas, M. E. & Lewis, J. B. (1995) Modulation by progesterone of interleukin-6 production by gingival fibroblasts. *J Periodontol* 66, 279-284. doi:10.1902/jop.1995.66.4.279.
- Lee, H. J., Kang, I. K., Chung, C. P. & Choi, S. M. (1995) The subgingival microflora and gingival crevicular fluid cytokines in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol* 22, 885-890.
- Lee, S. J., Lenton, E. A., Sexton, L. & Cooke, I. D. (1988) The effect of age on the cyclical patterns of plasma LH, FSH, oestradiol and progesterone in women with regular menstrual cycles. *Hum Reprod* 3, 851-855.
- Leimola-Virtanen, R., Salo, T., Toikkanen, S., Pulkkinen, J. & Syrjanen, S. (2000) Expression of estrogen receptor (ER) in oral mucosa and salivary glands. *Maturitas* 36, 131-137.
- Lester, S. R., Bain, J. L., Johnson, R. B. & Serio, F. G. (2007) Gingival concentrations of interleukin-23 and -17 at healthy sites and at sites of clinical attachment loss. *J Periodontol* 78, 1545-1550. doi: 10.1902/jop.2007.060458.
- Lindhe, J., Branemark, P. I. & Lundskog, J. (1967) Changes in vascular proliferation after local application of sex hormones. *J Periodontal Res* 2, 266-272.
- Lindhe, J. & Nyman, S. (1984) Long-term maintenance of patients treated for advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol* 11, 504-514.
- Llodra Calvo, J. C., Oliver, A., Montserrat Ingles Novell, M. & Villa, A. (2012) [Contributions and perspectives of the multiprofessional team to the health basket in primary care. SESPAS report 2012]. *Gac Sanit* 26 Suppl 1, 118-123. doi:10.1016/j.gaceta.2011.10.008.
- Lobo, R. A., Shoupe, D., Roy, S. & Paul, W. (1984) Central and peripheral metabolites of norepinephrine and dopamine in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 149, 548-552.
- Loe, H. (1967) The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *J Periodontol* 38, Suppl:610-616. doi:10.1902/jop.1967.38.6.610.
- Löe, H. (1967) The gingival index, the plaque index, and the retention index systems. *J Periodontol* 38, 610.
- Lopez-Marcos, J. F., Garcia-Valle, S. & Garcia-Iglesias, A. A. (2005) Periodontal aspects in menopausal women undergoing hormone replacement therapy. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 10, 132-141.

- Machtei, E. E., Christersson, L. A., Grossi, S. G., Dunford, R., Zambon, J. J. & Genco, R. J. (1992) Clinical criteria for the definition of "established periodontitis". *J Periodontol* 63, 206-214. doi: 10.1902/jop.1992.63.3.206.
- Machtei, E. E., Hausmann, E., Dunford, R., Grossi, S., Ho, A., Davis, G., Chandler, J., Zambon, J. & Genco, R. J. (1999) Longitudinal study of predictive factors for periodontal disease and tooth loss. *J Clin Periodontol* 26, 374-380.
- Malberg, K., Molle, A., Streuer, D. & Gangler, P. (1992) Determination of lymphocyte populations and subpopulations extracted from chronically inflamed human periodontal tissues. *J Clin Periodontol* 19, 155-158.
- Mariotti, A. (1994) Sex steroid hormones and cell dynamics in the periodontium. *Crit Rev Oral Biol Med* 5, 27-53.
- Markou, E., Boura, E., Tsalikis, L., Deligianidis, A. & Konstantinidis, A. (2011) The influence of sex hormones on proinflammatory cytokines in gingiva of periodontally healthy premenopausal women. *J Periodontal Res* 46, 528-532. doi:10.1111/j.1600-0765.2011.01369.x.
- Marsh, P. D. (2005) Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol* 32 Suppl 6, 7-15. doi:10.1111/j.1600-051X.2005.00790.x.
- Martinez-Maestre, M. A., Gonzalez-Cejudo, C., Machuca, G., Torrejon, R. & Castelo-Branco, C. (2010) Periodontitis and osteoporosis: a systematic review. *Climacteric* 13, 523-529. doi: 10.3109/13697137.2010.500749.
- Mascarenhas, P., Gapski, R., Al-Shammari, K. & Wang, H. L. (2003) Influence of sex hormones on the periodontium. *J Clin Periodontol* 30, 671-681. doi:055 [pii].
- Matuliene, G., Studer, R., Lang, N. P., Schmidlin, K., Pjetursson, B. E., Salvi, G. E., Bragger, U. & Zwahlen, M. (2010) Significance of Periodontal Risk Assessment in the recurrence of periodontitis and tooth loss. *J Clin Periodontol* 37, 191-199. doi:10.1111/j.1600-051X.2009.01508.x.
- Mealey, B. L. & Moritz, A. J. (2003) Hormonal influences: effects of diabetes mellitus and endogenous female sex steroid hormones on the periodontium. *Periodontol* 2000 32, 59-81.
- Medvei, V. (1993) The history of clinical endocrinology: a comprehensive account of endocrinology from earliest times to present day. New York, NY: Parthenon Publishing Group.

Meldrum, D. R., Davidson, B. J., Tataryn, I. V. & Judd, H. L. (1981) Changes in circulating steroids with aging in postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 57, 624-628.

Mendoza, N., Sanchez-Borrego, R., Cancelo, M. J., Calvo, A., Checa, M. A., Cortes, J., Elorriaga, M. A., Diaz, T., Gonzalez, J. V., Lete, I., Lobo, P., Martinez-Astorquiza, T., Nieto, A., Olalla, M. A., Perez-Campos, E., Porqueras, R., Quereda, F., Salamanca, A., De La Viuda, E. & Spanish Menopause Society, E. (2013) Position of the Spanish Menopause Society regarding the management of perimenopause. *Maturitas* 74, 283-290. doi:10.1016/j.maturitas.2012.12.010.

Morishita, M., Miyagi, M. & Iwamoto, Y. (1999a) Effects of sex hormones on production of interleukin-1 by human peripheral monocytes. *J Periodontol* 70, 757-760. doi:10.1902/jop.1999.70.7.757.

Morishita, M., Yamamura, T., Shimazu, A., Bachchu, A. H. & Iwamoto, Y. (1999b) Estradiol enhances the production of mineralized nodules by human periodontal ligament cells. *J Clin Periodontol* 26, 748-751.

Mott, A. E., Grushka, M. & Sessle, B. J. (1993) Diagnosis and management of taste disorders and burning mouth syndrome. *Dent Clin North Am* 37, 33-71.

Nakashima, T., Kobayashi, Y., Yamasaki, S., Kawakami, A., Eguchi, K., Sasaki, H. & Sakai, H. (2000) Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 275, 768-775. doi:10.1006/bbrc.2000.3379.

Nanba, H., Nomura, Y., Kinoshita, M., Shimizu, H., Ono, K., Goto, H., Arai, H., Takigawa, M. & Murayama, Y. (1989) [Periodontal tissues and sex hormones. Effects of sex hormones on metabolism of fibroblasts derived from periodontal ligament]. *Nihon Shishubyo Gakkai Kaishi* 31, 166-175.

Nelson, H. D. (2002) Assessing benefits and harms of hormone replacement therapy: clinical applications. *JAMA* 288, 882-884.

Norderyd, O. M., Grossi, S. G., Machtei, E. E., Zambon, J. J., Hausmann, E., Dunford, R. G. & Genco, R. J. (1993) Periodontal status of women taking postmenopausal estrogen supplementation. *J Periodontol* 64, 957-962. doi:10.1902/jop.1993.64.10.957.

- O'Leary, T. J., Drake, R. B. & Naylor, J. E. (1972) The plaque control record. *J Periodontol* 43, 38. doi: 10.1902/jop.1972.43.1.38.
- Offenbacher, S. (1996) Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1, 821-878. doi: 10.1902/annals.1996.1.1.821.
- Offenbacher, S., Collins, J. G. & Heasman, P. A. (1993) Diagnostic potential of host response mediators. *Adv Dent Res* 7, 175-181.
- Ohya, H., Kato-Kogoe, N., Kuhara, A., Nishimura, F., Nakasho, K., Yamanegi, K., Yamada, N., Hata, M., Yamane, J. & Terada, N. (2009) The involvement of IL-23 and the Th17 pathway in periodontitis. *J Dent Res* 88, 633-638. doi:10.1177/0022034509339889.
- Ojanotko-Harri, A. (1985) Metabolism of progesterone by healthy and inflamed human gingiva in vitro. *J Steroid Biochem* 23, 1031-1035.
- Pacifici, R. (1996) Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 11, 1043-1051. doi:10.1002/jbmr.5650110802.
- Paganini-Hill, A. (1995) The benefits of estrogen replacement therapy on oral health. The Leisure World cohort. *Arch Intern Med* 155, 2325-2329.
- Page, R. C. & Eke, P. I. (2007) Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol* 78, 1387-1399. doi:10.1902/jop.2007.060264.
- Palacios, S. (1992) Climaterio y Menopausia. In: *Farmacología de los estrógenos*, pp. 204-218. Madrid: Mirphal Ed.
- Palacios, S., Neyro, J. L., Puertas, J. C. & Fernandez de Cabo, S. (2013) Clinical profile of Spanish postmenopausal women with a diagnosis of osteoporosis and risk factors for endometrial pathology, breast cancer, and cardiovascular disease. *Menopause* 20, 852-859. doi:10.1097/GME.0b013e318280a2f6.
- Parkar, M. H., Newman, H. N. & Olsen, I. (1996) Polymerase chain reaction analysis of oestrogen and androgen receptor expression in human gingival and periodontal tissue. *Arch Oral Biol* 41, 979-983.

- Payne, J. B., Reinhardt, R. A., Masada, M. P., DuBois, L. M. & Allison, A. C. (1993) Gingival crevicular fluid IL-8: correlation with local IL-1 beta levels and patient estrogen status. *J Periodontal Res* 28, 451-453.
- Payne, J. B., Reinhardt, R. A., Nummikoski, P. V. & Patil, K. D. (1999) Longitudinal alveolar bone loss in postmenopausal osteoporotic/osteopenic women. *Osteoporos Int* 10, 34-40. doi:10.1007/s001980050191.
- Payne, J. B., Zachs, N. R., Reinhardt, R. A., Nummikoski, P. V. & Patil, K. (1997) The association between estrogen status and alveolar bone density changes in postmenopausal women with a history of periodontitis. *J Periodontol* 68, 24-31. doi:10.1902/jop.1997.68.1.24.
- Perez, J. A., Garcia, F. C., Palacios, S. & Perez, M. (2009) Epidemiology of risk factors and symptoms associated with menopause in Spanish women. *Maturitas* 62, 30-36. doi:10.1016/j.maturitas.2008.10.003.
- Pihlstrom, B. L., McHugh, R. B., Oliphant, T. H. & Ortiz-Campos, C. (1983) Comparison of surgical and nonsurgical treatment of periodontal disease. A review of current studies and additional results after 61/2 years. *J Clin Periodontol* 10, 524-541.
- Pilgram, T. K., Hildebolt, C. F., Yokoyama-Crothers, N., Dotson, M., Cohen, S. C., Hauser, J. F. & Kardaris, E. (1999) Relationships between longitudinal changes in radiographic alveolar bone height and probing depth measurements: data from postmenopausal women. *J Periodontol* 70, 829-833. doi:10.1902/jop.1999.70.8.829.
- Plancak, D., Vizner, B., Jorgic-Srdjak, K. & Slaj, M. (1998) Endocrinological status of patients with periodontal disease. *Coll Antropol* 22 Suppl, 51-55.
- Proye, M., Caton, J. & Polson, A. (1982) Initial healing of periodontal pockets after a single episode of root planing monitored by controlled probing forces. *J Periodontol* 53, 296-301. doi:10.1902/jop.1982.53.5.296.
- Ramfjord, S. P., Caffesse, R. G., Morrison, E. C., Hill, R. W., Kerry, G. J., Appleberry, E. A., Nissle, R. R. & Stults, D. L. (1987) Four modalities of periodontal treatment compared over five years. *J Periodontal Res* 22, 222-223.
- Rasmussen, D. D. (1986) New concepts in the regulation of hypothalamic gonadotropin releasing hormone (GnRH) secretion. *J Endocrinol Invest* 9, 427-437. doi:10.1007/BF03346958.

- Ravnikar, V. A. & Chen, E. (1994) Hysterectomies. Where are the indications? *Obstet Gynecol Clin North Am* 21, 405-411.
- Rawlinson, A., Dalati, M. H., Rahman, S., Wals, T. F. & Fairclough, A. L. (2000) Interleukin-1 and IL-1 receptor antagonist in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 27, 738-743.
- Reinhardt, R. A., Masada, M. P., Payne, J. B., Allison, A. C. & DuBois, L. M. (1994) Gingival fluid IL-1 beta and IL-6 levels in menopause. *J Clin Periodontol* 21, 22-25.
- Reinhardt, R. A., Payne, J. B., Maze, C., Babbitt, M., Nummikoski, P. V. & Dunning, D. (1998) Gingival fluid IL-1beta in postmenopausal females on supportive periodontal therapy. A longitudinal 2-year study. *J Clin Periodontol* 25, 1029-1035.
- Reinhardt, R. A., Payne, J. B., Maze, C. A., Patil, K. D., Gallagher, S. J. & Mattson, J. S. (1999) Influence of estrogen and osteopenia/osteoporosis on clinical periodontitis in postmenopausal women. *J Periodontol* 70, 823-828. doi:10.1902/jop.1999.70.8.823.
- Reinhardt, R. A., Stoner, J. A., Golub, L. M., Lee, H. M., Nummikoski, P. V., Sorsa, T. & Payne, J. B. (2010) Association of gingival crevicular fluid biomarkers during periodontal maintenance with subsequent progressive periodontitis. *J Periodontol* 81, 251-259. doi:10.1902/jop.2009.090374.
- Reyes, F. I., Winter, J. S. & Faiman, C. (1977) Pituitary-ovarian relationships preceding the menopause. I. A cross-sectional study of serum follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin, estradiol, and progesterone levels. *Am J Obstet Gynecol* 129, 557-564.
- Riggs, B. L. (1987) Pathogenesis of osteoporosis. *Am J Obstet Gynecol* 156, 1342-1346.
- Ronderos, M., Jacobs, D. R., Himes, J. H. & Pihlstrom, B. L. (2000) Associations of periodontal disease with femoral bone mineral density and estrogen replacement therapy: cross-sectional evaluation of US adults from NHANES III. *J Clin Periodontol* 27, 778-786.
- Saito, S., Ngan, P., Saito, M., Lanese, R., Shanfeld, J. & Davidovitch, Z. (1990) Interactive effects between cytokines on PGE production by human periodontal ligament fibroblasts in vitro. *J Dent Res* 69, 1456-1462.
- Salvi, G. E., Yalda, B., Collins, J. G., Jones, B. H., Smith, F. W., Arnold, R. R. & Offenbacher, S. (1997) Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal diseases in insulin-dependent diabetes mellitus patients. *J Periodontol* 68, 127-135. doi:10.1902/jop.1997.68.2.127.

- Samsioe, G., Jansson, I., Mellstrom, D. & Svanborg, A. (1985) Occurrence, nature and treatment of urinary incontinence in a 70-year-old female population. *Maturitas* 7, 335-342.
- Sanz, M., Teughels, W. & Group, A. o. E. W. o. P. (2008) Innovations in non-surgical periodontal therapy: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol* 35, 3-7. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01256.x.
- Scardina, G. A. & Messina, P. (2012) Oral microcirculation in post-menopause: a possible correlation with periodontitis. *Gerodontology* 29, 1045-1051.
- Sherman, B. M., Wallace, R. B. & Treloar, A. E. (1979) The menopausal transition: endocrinological and epidemiological considerations. *J Biosoc Sci Suppl*, 19-35.
- Sherman, S. (2005) Defining the menopausal transition. *Am J Med* 118 Suppl 12B, 3-7. doi: 10.1016/j.amjmed.2005.11.002.
- Shiau, H. J. & Reynolds, M. A. (2010a) Sex differences in destructive periodontal disease: a systematic review. *J Periodontol* 81, 1379-1389. doi:10.1902/jop.2010.100044.
- Shiau, H. J. & Reynolds, M. A. (2010b) Sex differences in destructive periodontal disease: exploring the biologic basis. *J Periodontol* 81, 1505-1517. doi:10.1902/jop.2010.100045.
- Ship, J. A., Patton, L. L. & Tylden, C. A. (1991) An assessment of salivary function in healthy premenopausal and postmenopausal females. *J Gerontol* 46, M11-15.
- Silness, J. & Löe, H. (1964) Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 22, 112-135.
- Silva, N., Dutzan, N., Hernandez, M., Dezerega, A., Rivera, O., Aguilon, J. C., Aravena, O., Lastres, P., Pozo, P., Vernal, R. & Gamonal, J. (2008) Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells. *J Clin Periodontol* 35, 206-214. doi:10.1111/j.1600-051X.2007.01190.x.
- Slots, J. & Ting, M. (1999) *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment. *Periodontol* 2000 20, 82-121.

- Smith, M. A., Lucie, N. P., Ferguson, M. M., Mairs, R. J. & Smith, J. G. (1986) Progesterone inhibits proliferation of human marrow colony forming cells (CFU-GM) through increased prostaglandin production by marrow macrophages. *Br J Haematol* 63, 649-658.
- Socransky, S. S. & Haffajee, A. D. (1992) The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol* 63, 322-331. doi:10.1902/jop.1992.63.4s.322.
- Stadler, A. F., Angst, P. D., Arce, R. M., Gomes, S. C., Oppermann, R. V. & Susin, C. (2016) Gingival crevicular fluid levels of cytokines/chemokines in chronic periodontitis: a meta-analysis. *J Clin Periodontol* 43, 727-745. doi:10.1111/jcpe.12557.
- Stampfer, M. J. & Colditz, G. A. (1991) Estrogen replacement therapy and coronary heart disease: a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Prev Med* 20, 47-63.
- Stashenko, P., Fujiyoshi, P., Obernesser, M. S., Probst, L., Haffajee, A. D. & Socransky, S. S. (1991) Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol* 18, 548-554.
- Stenberg, A., Heimer, G., Ulmsten, U. & Cnattingius, S. (1996) Prevalence of genitourinary and other climacteric symptoms in 61-year-old women. *Maturitas* 24, 31-36.
- Stoller, N. H., Karras, D. C. & Johnson, L. R. (1990) Reliability of crevicular fluid measurements taken in the presence of supragingival plaque. *J Periodontol* 61, 670-673. doi:10.1902/jop.1990.61.11.670.
- Streckfus, C. F., Baur, U., Brown, L. J., Bacal, C., Metter, J. & Nick, T. (1998) Effects of estrogen status and aging on salivary flow rates in healthy Caucasian women. *Gerontology* 44, 32-39.
- Streckfus, C. F., Johnson, R. B., Nick, T., Tsao, A. & Tucci, M. (1997) Comparison of alveolar bone loss, alveolar bone density and second metacarpal bone density, salivary and gingival crevicular fluid interleukin-6 concentrations in healthy premenopausal and postmenopausal women on estrogen therapy. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 52, M343-351.
- Sultan, N. & Rao, J. (2011) Association between periodontal disease and bone mineral density in postmenopausal women: a cross sectional study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 16, e440-447.

- Sun, L., Tan, L., Yang, F., Luo, Y., Li, X., Deng, H. W. & Dvornyk, V. (2012) Meta-analysis suggests that smoking is associated with an increased risk of early natural menopause. *Menopause* 19, 126-132. doi:10.1097/gme.0b013e318224f9ac.
- Suvan, J. E. (2005) Effectiveness of mechanical nonsurgical pocket therapy. *Periodontol* 2000 37, 48-71. doi:10.1111/j.1600-0757.2004.03794.x.
- Suzuki, J. B. (1988) Diagnosis and classification of the periodontal diseases. *Dent Clin North Am* 32, 195-216.
- Syed, S. A. & Loesche, W. J. (1972) Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl Microbiol* 24, 638-644.
- Taguchi, A., Sanada, M., Suei, Y., Ohtsuka, M., Nakamoto, T., Lee, K., Tsuda, M., Ohama, K., Tanimoto, K. & Bollen, A. M. (2004) Effect of estrogen use on tooth retention, oral bone height, and oral bone porosity in Japanese postmenopausal women. *Menopause* 11, 556-562.
- Tarkkila, L., Furuholm, J., Tiitinen, A. & Meurman, J. H. (2008) Oral health in perimenopausal and early postmenopausal women from baseline to 2 years of follow-up with reference to hormone replacement therapy. *Clin Oral Investig* 12, 271-277. doi:10.1007/s00784-008-0190-z.
- Tarkkila, L., Kari, K., Furuholm, J., Tiitinen, A. & Meurman, J. H. (2010) Periodontal disease-associated micro-organisms in peri-menopausal and post-menopausal women using or not using hormone replacement therapy. A two-year follow-up study. *BMC Oral Health* 10, 10. doi: 10.1186/1472-6831-10-10 1472-6831-10-10 [pii].
- Tezal, M., Wactawski-Wende, J., Grossi, S. G., Ho, A. W., Dunford, R. & Genco, R. J. (2000) The relationship between bone mineral density and periodontitis in postmenopausal women. *J Periodontol* 71, 1492-1498. doi:10.1902/jop.2000.71.9.1492.
- Unsal, E., Akkaya, M. & Walsh, T. F. (1994) Influence of a single application of subgingival chlorhexidine gel or tetracycline paste on the clinical parameters of adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 21, 351-355.
- van der Velden, U. (1979) Probing force and the relationship of the probe tip to the periodontal tissues. *J Clin Periodontol* 6, 106-114.

- Van der Weijden, G. A. & Timmerman, M. F. (2002) A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 29 Suppl 3, 55-71; discussion 90-51.
- Van Dyke, T. E. & van Winkelhoff, A. J. (2013) Infection and inflammatory mechanisms. *J Periodontol* 84, S1-7. doi:10.1902/jop.2013.1340018.
- van Geel, A. C., Geusens, P. P., Nagtzaam, I. F., Schreurs, C. M., van der Voort, D. J., Rinkens, P. E., Kester, A. D. & Dinant, G. J. (2006) Timing and risk factors for clinical fractures among postmenopausal women: a 5-year prospective study. *BMC Med* 4, 24. doi: 10.1186/1741-7015-4-24.
- van Keep, P. A. (1990) The history and rationale of hormone replacement therapy. *Maturitas* 12, 163-170.
- Vernal, R., Dutzan, N., Chaparro, A., Puente, J., Antonieta Valenzuela, M. & Gamonal, J. (2005) Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 32, 383-389. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00684.x.
- Vernal, R., Leon, R., Silva, A., van Winkelhoff, A. J., Garcia-Sanz, J. A. & Sanz, M. (2009) Differential cytokine expression by human dendritic cells in response to different *Porphyromonas gingivalis* capsular serotypes. *J Clin Periodontol* 36, 823-829. doi:10.1111/j.1600-051X.2009.01462.x.
- Vittekk, J., Gordon, G. G., Rappaport, S. C., Munnangi, P. R. & Southren, A. L. (1982a) Specific progesterone receptors in rabbit gingiva. *J Periodontal Res* 17, 657-661.
- Vittekk, J., Hernandez, M. R., Wenk, E. J., Rappaport, S. C. & Southren, A. L. (1982b) Specific estrogen receptors in human gingiva. *J Clin Endocrinol Metab* 54, 608-612. doi:10.1210/jcem-54-3-608.
- Vittekk, J., Rappaport, S. C., Gordon, G. G., Hagedoorn, J. & Southren, A. L. (1982c) Metabolism of androgens by human periodontal ligament. *J Dent Res* 61, 1153-1157.
- Volpe, A., Lucenti, V., Forabosco, A., Boselli, F., Latessa, A. M., Pozzo, P., Petraglia, F. & Genazzani, A. R. (1991) Oral discomfort and hormone replacement therapy in the post-menopause. *Maturitas* 13, 1-5.

- von Elm, E. & Egger, M. (2004) The scandal of poor epidemiological research. *BMJ* 329, 868-869. doi:10.1136/bmj.329.7471.868.
- von Muhlen, D. G., Kritz-Silverstein, D. & Barrett-Connor, E. (1995) A community-based study of menopause symptoms and estrogen replacement in older women. *Maturitas* 22, 71-78.
- Wactawski-Wende, J. (2001) Periodontal diseases and osteoporosis: association and mechanisms. *Ann Periodontol* 6, 197-208. doi:10.1902/annals.2001.6.1.197.
- Wang, Y., LaMonte, M. J., Hovey, K. M., Mai, X., Tezal, M., Millen, A. E., Ochs-Balcom, H. M., Genco, R. J., Barnabei, V. M. & Wactawski-Wende, J. (2015) Association of serum 17beta-estradiol concentration, hormone therapy, and alveolar crest height in postmenopausal women. *J Periodontol* 86, 595-605. doi:10.1902/jop.2015.140533.
- Wardrop, R. W., Hailes, J., Burger, H. & Reade, P. C. (1989) Oral discomfort at menopause. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 67, 535-540.
- Waterman, W. H. & Sha'afi, R. I. (1995) A mitogen-activated protein kinase independent pathway involved in the phosphorylation and activation of cytosolic phospholipase A2 in human neutrophils stimulated with tumor necrosis factor-alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 209, 271-278.
- Whitehead, M. & Godfree, V. (1992a) Consecuencias de la deficiencia estrogénica. *Terapéutica hormonal sustitutiva*. Madrid: Harofarma SA.
- Whitehead, M. & Godfree, V. (1992b) Consecuencias de la deficiencia estrogénica. *Terapia hormonal sustitutiva*. Madrid: Harofarma S.A.
- Wikstrom, M., Renvert, S., Dahlen, G. & Johnsson, T. (1991) Variance in recovery of periodontitis-associated bacteria caused by sampling technique and laboratory processing. *Oral Microbiol Immunol* 6, 102-106.
- Willershausen, B., Lemmen, C. & Hamm, G. (1991) [Modulation of glycosaminoglycan- and collagen synthesis of human gingival fibroblasts by progesterone]. *Dtsch Zahnarztl Z* 46, 668-671.
- Wilson, R. A. (1968) *Feminine forever*. New York: M. Evans and Company Inc.
- Yalcin, F., Gurgan, S. & Gurgan, T. (2005) The effect of menopause, hormone replacement therapy (HRT), alendronate (ALN), and calcium supplements on saliva. *J Contemp Dent Pract* 6, 10-17.

Yasui, T., Hayashi, K., Mizunuma, H., Kubota, T., Aso, T., Matsumura, Y., Lee, J. S. & Suzuki, S. (2012) Factors associated with premature ovarian failure, early menopause and earlier onset of menopause in Japanese women. *Maturitas* 72, 249-255. doi:10.1016/j.maturitas.2012.04.002 S0378-5122(12)00148-X [pii].

Zakrzewska, J. M. (1996) Women as dental patients: are there any gender differences? *Int Dent J* 46, 548-557.

Zanatta, G. M., Bittencourt, S., Nociti, F. H., Jr., Sallum, E. A., Sallum, A. W. & Casati, M. Z. (2006) Periodontal debridement with povidone-iodine in periodontal treatment: short-term clinical and biochemical observations. *J Periodontol* 77, 498-505. doi:10.1902/jop.2006.050154.

Zhao, L., Zhou, Y., Xu, Y., Sun, Y., Li, L. & Chen, W. (2011) Effect of non-surgical periodontal therapy on the levels of Th17/Th1/Th2 cytokines and their transcription factors in Chinese chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 38, 509-516. doi:10.1111/j.1600-051X.2011.01712.x.

ANEXOS



Hospital Clínico San Carlos



Informe Dictamen Protocolo Favorable

C.P. - C.I. 13/351-E

25 de noviembre de 2014

CEIC Hospital Clínico San Carlos

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Clínico San Carlos en su reunión del día 19/11/2014, acta 11.2/14 ha evaluado la propuesta del promotor/investigador referida al estudio:

Título: "INFLUENCIA DE LAS VARIACIONES HORMONALES EN EL PERIODONTO. Efecto clínico e inmunológico en el tratamiento no quirúrgico de la periodontitis crónica en pacientes postmenopáusicas con terapia hormonal sustitutiva"

Que en este estudio:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- La capacidad del investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto de los postulados éticos.
- Se cumplen los preceptos éticos formulados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa legal aplicable en función de las características del estudio.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho proyecto por el **Dr. Antonio Bascones Martínez** como investigador principal en el Departamento de Estomatología III. Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid.

Lo que firmo en Madrid, a 25 de noviembre de 2014

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Madrid, 10 de agosto de 2015

El **Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de la Princesa** en su reunión del día 06-08-2015 (acta 15/15) después de evaluar la respuesta a la solicitud de aclaraciones solicitadas del siguiente proyecto de investigación:

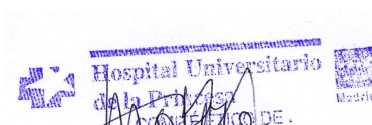
TÍTULO: Influencia de las variaciones hormonales en el periodonto. Efecto clínico e inmunológico en el tratamiento no quirúrgico de la periodontitis crónica en pacientes posmenopáusicas con terapia hormonal sustitutiva.

Nº de Registro: PI-806

Investigador principal: Santiago Palacios (Instituto Palacios)

Decisión tomada: Aprobación (06-08-15)

Este Comité Ético de Investigación Clínica considera que tanto el proyecto de investigación como la Hoja de información al paciente y consentimiento informado son **ética y metodológicamente aceptables**. Asimismo, considera que los investigadores son competentes para llevar a cabo este proyecto.



Fdo: **Dra. M^a de Mar Ortega Gómez**
Secretaria del C.E.I.C.



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA BUCOFACIAL
ESTOMATOLOGÍA III

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estudio: “Efecto clínico e inmunológico en el tratamiento no quirúrgico de la periodontitis crónica en pacientes posmenopáusicas con terapia hormonal sustitutiva”.

Yo, _____
 (NOMBRE Y APELLIDOS)

He recibido la hoja de información
 He podido hacer preguntas sobre el estudio
 He recibido respuesta satisfactoria a mis preguntas
 He recibido suficiente información sobre el estudio

He hablado con _____
 (NOMBRE Y APELLIDOS DEL INVESTIGADOR)

Comprendo que mi participación es voluntaria.
 Comprendo que puedo retirarme del estudio:
 1º Cuando quiera
 2º Sin tener que dar explicaciones
 3º Sin que esto repercuta en mis cuidados dentales.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

_____, ____ de _____ de 201__

Firma del Participante



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA BUCOFACIAL
ESTOMATOLOGÍA III

INFORMACIÓN ESCRITA PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ENSAYO CLÍNICO

Título del estudio: “Efecto clínico e inmunológico en el tratamiento no quirúrgico de la periodontitis crónica en pacientes postmenopáusicas con terapia hormonal sustitutiva”.

Santiago Arias Herrera, Rocío Díez Pérez, Antonio Bascones Martínez

Lea detenidamente este formulario

Si tiene alguna duda, pregunte antes de firmar

INFORMACIÓN DEL ESTUDIO

La periodontitis es una enfermedad infecciosa de los tejidos que sujetan los dientes (“periodonto”) que ocasiona la destrucción progresiva de los mismos. Esta destrucción es irreversible, y además favorece la progresión de la enfermedad, al formarse bolsas entre diente y encía, en las que se acumulan las bacterias responsables del proceso, y que por encontrarse por debajo del nivel de la encía son difíciles de eliminar.

Las variaciones hormonales que experimentan las mujeres en situaciones fisiológicas y no fisiológicas producen cambios significativos en el periodonto, en especial en presencia de inflamación gingival inducida por la placa preexistente.

Por estas razones, en este estudio valoraremos primero si usted tiene periodontitis, y si es así, le ofreceremos recibir tratamiento periodontal. El tratamiento periodontal trata de controlar en las encías la infección para detener la progresión de la enfermedad y conseguir mantener el periodonto sano. El raspado y alisado radicular es la fase básica de ese tratamiento y consiste en la eliminación de las bacterias, la placa y el cálculo de las raíces de los dientes bajo anestesia local.

El objetivo de este estudio es determinar si la relación bidireccional existente entre el menopausia y la periodontitis y si el empleo de terapia hormonal sustitutiva podría tener un beneficio adicional en el tratamiento periodontal no quirúrgico.

OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El *objetivo* de la presente investigación será evaluar la terapia hormonal sustitutiva en los resultados clínicos e inmunológicos del tratamiento periodontal no quirúrgico en mujeres posmenopáusicas con periodontitis crónica moderada.

CARÁCTER VOLUNTARIO DE LA PARTICIPACIÓN

Su participación en el presente estudio es absolutamente libre y voluntaria, por lo que usted puede negarse a participar. De igual modo, si decide participar en el estudio, podrá en todo momento revocar su decisión y abandonar el estudio. En ninguno de los dos casos anteriores se verá perjudicado su posterior tratamiento. Del mismo modo, su participación también podrá ser interrumpida si el facultativo responsable así lo decide en el interés de su salud o por uno de los siguientes supuestos: porque no sea posible llevar a cabo el procedimiento requerido según el protocolo del estudio o bien porque no siga usted las instrucciones del protocolo. En ese caso, se le informará sobre métodos de tratamiento alternativos.

DESARROLLO DEL ESTUDIO

Para participar en el estudio es imprescindible acudir en varias ocasiones a la Facultad de Odontología, pero solamente serán las citas necesarias para su tratamiento convencional.

No será necesario acudir visitas añadidas. A continuación se detallan las diferentes visitas que contempla el estudio (total: 3 meses):

Instituto Palacios

1. Visita correspondiente a la densitometría. En esta visita se realizará una revisión periodontal básica, se le proporcionará la información del estudio y el consentimiento informado.
2. Análisis de sangre para ver niveles hormonales y exploración ginecológica.

Universidad Complutense de Madrid

Visita 1: Se procederá a realizar un examen periodontal completo así como la toma de muestras microbiológicas y de fluído gingival.

Visita 2 y 3: Visitas dedicadas al tratamiento periodontal en el que cada día se tratará la mitad de la boca con anestesia local. En el caso de necesitar sólo una limpieza, se realizará en una sola sesión.

Visita 4: Se realizará un mes después del tratamiento periodontal. Se hará una valoración de los efectos del tratamiento. Se reforzarán medidas de higiene y cuidados.

Visita 5: Se realizará a los 3 meses del tratamiento periodontal. Se volverá a valorar el resultado del tratamiento y se tomarán de nuevo muestras microbiológicas y de fluido gingival para su análisis.

